

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/148626>

Please be advised that this information was generated on 2018-07-07 and may be subject to change.

**Errata bij het academisch proefschrift: Intrahepatische galgangatresie.
Klinische, histologische en biochemische onderzoeken. (J. M. Boon)**

1. Pagina 33, 16e regel van onder.
Deze regel moet als volgt luiden: leverziekten te lijden en wel resp. aan extrahepatische galgangatresie
2. Pagina 72, figuur 11. Bij het selecteren van de microfoto's voor het vervaardigen van de clichés is een fout gemaakt. Tengevolge daarvan is de tekst bij figuur 11 onjuist. In het afgebeelde driehoekje van Kiernan zijn namelijk twee (grotere) galgangen zichtbaar.

INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE

KLINISCH, HISTOLOGISCH EN BIOCHEMISCHE
ONDERZOEKINGEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN
DE GENESKUNDE AAN DE KATHOLIEKE UNIVERSITEIT
TE NIJMEGEN OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS
PROF. MR. F. J. M. DUYNSTEE VOLGENS BESLUIT
VAN HET COLLEGE VAN DECANEN IN HET OPINBAAR
TE VERDIJDIGEN OP VRIJDAG 12 JANUARI 1973 DES
NAMIDDAGS 11.200 UUR PRINCIPES

door

JOHANNES MARIA BOON

geboren te Haarlem

1973

DRUKKERIJ SCHEPERS NIJMEGEN

Dit proefschrift werd bewerkt in de Kliniek voor Kindergeneeskunde (hoofd Prof. Dr. L. D. A. M. Schutten) van de Katholieke Universiteit te Nijmegen.

Het histologische onderzoek werd verricht in het Instituut voor Pathologische Anatomie (hoofd Prof. Dr. P. H. M. Schillings) door Drs. J. H. Peters en Drs. J. F. M. M. Misere. De electronenmicroscopische onderzoekingen werden uitgevoerd door Dr. J. H. Schuurmans Stekhoven en Dr. U. J. G. van Haelst eveneens in het Instituut voor Pathologische Anatomie. Prof. Dr. A. Desmet (Leuven) was ons behulpzaam bij de histologische beoordeling van een aantal levercoupes.

De galzuumbepalingen werden uitgevoerd door Dr. J. A. J. M. Bakkeren met medewerking van Mev. A. J. M. Lucassen. Drs. H. H. J. M. van Dijk en Drs. C. S. J. L. Hermus op het laboratorium van de afdeling kindergeneeskunde (hoofd Dr. P. J. J. van Munster). De fosfolipiden analyses werden o.l.v. Dr. R. M. Broekhuysse uitgevoerd door Mev. E. D. Kuhlmann.

De gaschromatografische bepalingsmethode was overgenomen van Prof. Dr. H. Tussen die bovendien met medewerking van Dr. I. Compennolle en de Heer G. Pauwmonder door middel van een gecombineerde toepassing van gaschromatografie en massaspectrometrie de identiteit vaststelde van een onbekend galzuim. Dit laatste genoemde onderzoek werd uitgevoerd in het Rega Instituut te Leuven (Belgie).

Klinische en biochemische gegevens over patiënte H. werden ons geleverd door Prof. Dr. I. Eggemont te Leuven.

Op de zusters van de zuigelingenafdeling van het Sint Radboudziekenhuis moest vaak een beroep gedaan worden voor het opvangen van gal door middel van duodenaal sondage.

Bij het samenstellen van de uiteindelijke tekst van het proefschrift waren Dr. J. A. J. M. Bakkeren, Dr. A. H. M. Tohman, Dr. I. A. H. Monnens, Dr. J. M. I. Tuijthof en Dr. J. H. Veerkamp bereid kritische kanttekeningen te plaatsen bij een aantal passages van het proefschrift.

Drs. Ph. van Hieren (universitair rekencentrum) was bereid ons een aantal uitkomsten van bepalingen in gal van patiënten en van controles statistisch te bewerken. Dr. B. W. J. Ellenbroek gaf aanwijzingen betreffende de juiste chemische nomenclatuur.

Het typewerk werd op uitstekende wijze en enkele malen tot in de late avonden verzorgd door Mev. G. U. H. v. d. Goor, Mev. G. I. M. Gommans en Mev. J. A. A. I. Rutten.

De tekeningen en schemas werden vervaardigd door de Heer W. P. J. Maas (medische tekenkamer — hoofd J. J. M. de Bekker). De microfotos werden gemaakt door de Heer A. Th. A. I. Reijnen die bovendien onmisbare adviezen heeft gegeven bij het persklaar maken van het manuscript.

De Heren F. de Graaff en A. H. M. Wolf waren steeds behulpzaam bij het oplossen van problemen op het gebied van de geraadpleegde literatuur.

Van bovengenoemden en alle anderen die hebben bijgedragen tot het tot stand komen van dit proefschrift betuig ik mijn hartelijke dank.

INHOUD

INLEIDING	11
-----------	----

HOOFDSTUK 1

FAMILIALE NEONATALE LEVERZIEKTEN MET STUWINGSIKTUS	13
1.1 Familiale neonatale hepatitis	13
1.2 Perinatale idiopathische hemochromatose	14
1.3 Enkele andere zeldzaam voorkomende familiale leverziekten met stuwingsikteus	14
1.3.1 Hereditaire recidiverende intrahepatische cholestase vanaf de geboorte	14
1.3.2 "Ziekte van Byler"	15
1.4 Familiaal voorkomende anatomische afwijkingen met stuwingsik- teus	15
1.4.1 Familiale extrahepatische galgangatresie	15
1.4.2 Familiale intrahepatische galgangatresie	16
1.4.3 Het voorkomen van anatomische afwijkingen aan de galwegen en hepatitis of cirrose in een gezin	16

HOOFDSTUK 2

LITERATUUROVERZICHT VAN INTRAHEPATISCHE GALANGATRESIE	18
2.1 Opsomming van gepubliceerde gevallen	18
2.2 Klinische en biochemische bevindingen bij intrahepatische galgang- atresie	19
2.3 Pathologisch anatomische kenmerken van intrahepatische galganga- tresie	26
2.3.1 Ontwikkeling van de menselijke lever	26
2.3.2 Microscopische anatomie van normaal leverweefsel en van lever bij intrahepatische galgangatresie	29
2.4 Familiaal voorkomen van intrahepatische galgangatresie	33
2.5 Mogelijkheden bij het stellen van de diagnose intrahepatische gal- gangatresie	33
2.6 Therapie bij intrahepatische galgangatresie	35

HOOFDSTUK 3

SAMENSTELLING EN SEKRETIE VAN GAL	39
3.1 Belangrijkste bestanddelen van gal	39
3.1.1 Galzouten	39
3.1.2 Fosfolipiden	43
3.1.3 Cholesterol	41
3.1.4 Overige bestanddelen van gal	44
3.2 Functie van galzouten bij de vorming en secretie van gal	44
3.3 Galsamenstelling bij zuigelingen	48

HOOFDSTUK 4

GALSTASE	50
4.1 Definitie van het begrip galstase en beschrijving van de morphologische verschijnselen	50
4.2 Voórkomen van intrahepatische galstase	51
4.3 Het mechanisme van galstase	52
4.4 De gevolgen van galstase	53

HOOFDSTUK 5

EIGEN PATIENTEN MET INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE	56
5.1 Twee broers lijdend aan intrahepatische galgangatresie	56
5.2 Overige patienten met intrahepatische galgangatresie	57
5.3 Patient met intra- en extrahepatische galgangatresie	61
5.4 Samenvatting van de bevindingen bij eigen patienten	65

HOOFDSTUK 6

RESULTATEN VAN MORPHOLOGISCH ONDERZOEK VAN DE LEVER BIJ EIGEN PATIENTEN	68
6.1 Lichtmicroscopisch onderzoek	68
6.1.1 Biopsie	68
6.1.2 Autopsie	71
6.1.3 Atresie van galgangen op verschillende niveau's in de lever	71

6.2	Electronenmicroscopisch onderzoek	77
6.2.1	Materiaal en methoden	77
6.2.2	Resultaten	80

HOOFDSTUK 7

ANALYSE VAN GAL BIJ LIEGEN PATIENTEN

7.1	Opvangen van duodenaal inhoud	83
7.2	Isolatie en bepaling van galzuren en cholesterol	83
7.2.1	Isolatie van galzuren	83
7.2.2	Isolatie van cholesterol	81
7.2.3	Gaschromatografische bepaling van galzuren en cholesterol	84
7.2.4	Massaspectrometrische bepaling van een onbekend galzuur	85
7.3	Fosfolipidenanalyse	86

HOOFDSTUK 8

RESULTATEN VAN ANALYSE VAN DUODENALE GAL VAN NORMALE ZUGELINGEN EN VAN PATIENTEN MET INTRINSEECHE GALGANGATRESIE

8.1	Kuize van leeftijdsgroep van normale kinderen en van de te verrichten analyses	88
8.2	Resultaten van lipidenbepalingen in gal van normale zuigelingen	90
8.2.1	Concentraties galzuren, fosfolipiden en cholesterol in gal van normale zuigelingen	90
8.2.2	Fosfolipidenspectrum van gal van normale zuigelingen	91
8.2.3	Conclusies omtrent galamenstelling bij normale zuigelingen	93
8.3	Resultaten van lipidenbepalingen in gal van patienten	93
8.3.1	Concentratie van galzuren, fosfolipiden en cholesterol in patientegal	93
8.3.2	Fosfolipidenspectrum van patientegal	96

HOOFDSTUK 9

TRIHYDROXYCOPROSTANZUUR

9.1	Gaschromatografisch onderzoek	98
9.2	Massaspectrometrisch onderzoek	98

9.3	Onderzoek naar voorkomen van trihydroxycoprostaanzuur in gal bij normalen en bij een aantal patienten met leverziekten en enkele andere ziekten	101
9.4	Conclusie	101
HOOFDSTUK 10		
DISCUSSIE		103
10.1	Indeling van eigen patienten met intrahepatische galgangatresie	103
10.2	Hypothese over de pathogenese van intrahepatische galgangatresie type 1	101
10.3	Combinatie van intrahepatische galgangatresie en hantafwijkingen	106
SAMENVATTING		108
SUMMARY		110
LITERATUUR		113

Onderwerp van deze studie is het ziektebeeld dat aangeduid wordt met de naam intrahepatische galgangatresie (IHGA). Wij waren in de gelegenheid enkele patienten lijdende aan deze ziekte te observeren en bij deze patienten een aantal niet eerder gepubliceerde biochemische bepalingen te verrichten. Het doel van dit onderzoek was een beter inzicht te verkrijgen in de etiologie en de pathogenese van de ziekte.

Op grond van gegevens uit de literatuur moet IHGA gedefinieerd worden als het ontbreken of in sterke mate verminderd aanwezig zijn van interlobulaire galgangen. Volgens sommige auteurs zijn de anatomische afwijkingen reeds bij de geboorte aanwezig, volgens anderen treden de afwijkingen pas later, tijdens de eerste levensjaren op.

Een gecombineerd voorkomen van de intra- en extrahepatische galgangatresie is eerder beschreven. Bij een dergelijke combinatie wordt het ziekteverloop bepaald door de extrahepatische component en dit laatstgenoemde ziektebeeld verschilt daardoor sterk van de intrahepatische vorm.

Een bijzonderheid van de door ons beschreven groep patienten is het feit, dat twee van onze patienten met IHGA broers zijn. Een familiaal voorkomen van deze ziekte werd reeds eerder vermeld in de literatuur. In verband met het familiale voorkomen van IHGA bij twee van onze patienten wordt in het eerste hoofdstuk aandacht besteed aan familiale neonatale leverziekten.

Omdat een afwijkende galsamenstelling galstase kan veroorzaken en omdat een dergelijke galstase mogelijk een verdwijnen van intrahepatische galgangen tot gevolg heeft, leek ons de analyse van de gal, met name wat betreft de drie componenten: galzouten, cholesterol en fosfolipiden van belang.

Naar aanleiding van onze bevindingen bij de galanalyse en op grond van literatuurgegevens wordt een hypothese opgesteld over een ontstaanswijze van IHGA.

FAMILIALE NEONATALE LEVERZIEKTEN MET STUWINGSICTERUS

Behalve de ziektebeelden die in dit hoofdstuk beschreven worden kunnen in de neonatale periode en de daaraan aansluitende periode bij de jonge zuigeling nog andere ziekten met stuwingsicterus voorkomen zo als galactosemie en tyrosinemie, waarvan ook familiale gevallen beschreven zijn. Deze laatstgenoemde ziekten zijn echter met behulp van routine laboratoriumonderzoek aan te tonen en leveren geen moeilijkheden op bij de differentiaal diagnose met IHG A.

Aan ziekten waarmee mogelijk wel verwarring zou kunnen optreden, wordt hieronder een korte bespreking gewijd.

1.1 FAMILIALE NEONATALE HEPATITIS

Sinds het verschijnen van de beschrijving van neonatale hepatitis (NH) door Craig en Landing (1952) zijn vele gevallen van familiaal voorkomen van het ziektebeeld medegedeeld (Scott 1951, Gellis e.a. 1954, Peterman 1957, Hsia 1958, Danks 1963, Cassady 1961, Laplace 1964, Boon 1965).

Ofschoon in een aantal gevallen van hepatitis van de pasgeborene een virale etiologie kan worden aangetoond, wordt als oorzaak van de *familiale* vorm van neonatale hepatitis een aangeboren stofwisselingsstoornis waarschijnlijk geacht dan een infectie (Gellis 1951, Scott 1954, Hsia 1958). Evenwel is ook bij de familiale neonatale hepatitis een virale infectie als oorzaak van de leverbeschadiging niet uitgesloten (Hsia 1958).

Het klinische verloop is meestal als volgt: normale bevindingen bij het onderzoek na de geboorte, geelzucht omstreeks de tiende levensdag, lues wisselend ontkleurd, gegeneraliseerde lymphenopathie, subleberle ten, peratuur en tenslotte overlijden in het eerste levensjaar na toegenomen de leverfunctiestoornissen.

De belangrijkste histologische kenmerken van de lever bij NH zoals zij opgesomd zijn door Craig en Landing (1952) zijn de volgende, verstoring van het celbalkjes patroon, schrompeling van de lobuli, geringe gal gangwoekering en een wisselend aantal reuscellen. De reuscellen zijn tot 400 μ groot en bevatten gemiddeld 6-9, maximaal tot 20 kernen. Het bovengenoemde syndroom moet naar onze mening strikt onderscheiden worden van perinatale idiopathische hemochromatose (Liebenberg 1960).

welk ziektebeeld besproken zal worden sub 1.2. Op het verschil tussen beide ziekten is reeds eerder de aandacht gevestigd (Boon en Schietlen 1970). Li wordt op gewezen dat de benamingen „neonatale hepatitis“ en „reuscelhepatitis“, niet synoniem zijn (Bient 1962), ofschoon beide namen door sommige auteurs door elkaar gebruikt worden voor een en hetzelfde ziektebeeld. Omdat het voorkomen van reuscellen een niet specifiek verschijnsel is, — reuscellen worden o.a. ook gevonden bij hemolytische anemie (Bain e.a. 1957), galactosemie (Suzuki 1966), en galgangatiese (Silverberg e.a. 1960) — is ons inziens de benaming neonatale hepatitis te prefereren boven reuscelhepatitis.

1.2 PERINATALE IDIOPATHISCHE HYPOMORFATOSIS (PIH)

PIH is door Fienberg (1960) voor het eerst als een afzonderlijk ziektebeeld beschreven. Enkele belangrijke kenmerken van dit ziektebeeld zijn een familiaal voorkomen en overlijden op zeer jonge leeftijd, vaak zonder dat een ikterus is opgetreden. De langst beschreven levensduur bedraagt vier dagen (Saltet 1968). Behalve het typische, snel infauste verloop valt een vaak voorkomende dysmatuïteit te vermelden, soms gepaard gaande met hypoglycemieën. De lever is meestal klein en vast van consistentie.

Histologisch leveronderzoek toont een atrofie van het parenchym dat ten dele vervangen is door bindweefsel. Er zijn syncytia, die afkomstig lijken te zijn van groepen parenchymcellen, waarvan de tussenschotten verdwenen zijn. In de syncytiale cellen komt een sterke ijzerstapeling voor, evenals in de acinuscellen van de pancreas en in mindere mate in de niertubuluscellen en in het myocard; in de milt daarentegen is er geen ijzerstapeling. In verband met het zeer kenmerkende histologische beeld en het infauste verloop kan deze ziekte naar wij menen goed herkend worden, hetgeen niet het geval is met de hiernavolgende heterogene groep ziekten die gepaard gaan met neonatale obstructie ikterus.

1.3 ENKELE ANDERE ZELDZAAM VOORKOMENDE FAMILIALE ZIEKTEN GEPAARD GAANDE MET NEONATALE OBSTRUCTIE IKTERUS

1.3.1 *Hereditaire recidiverende intrahepatische cholestase vanaf de geboorte*

Onder bovengenoemde naam beschreven Aagenaes e.a. (1968) een familiaal voorkomende intrahepatische galstase, optriedend vanaf de geboorte. Er konden 16 patienten opgespoord worden, allen verwant met elkaar. Li is een geelzucht van het stuwingsstype. Volgens de auteurs komt het ziektebeeld in de neonatale periode zowel klinisch als pathologisch-anatomisch overeen met het beeld van een neonatale hepatitis, zo-

als het beschreven is door Craig en Landing (1952). Het verdere ziekteverloop is echter verschillend. De patienten krijgen neurologische afwijkingen en later lymphoedeem van de onderste extremiteiten. In de loop der jaren treden herhaaldelijk perioden van ikterus op, gepaard gaande met jeuk; gedurende de ikterus-vrije perioden zijn er weinig klachten. De oudst beschreven patient is 33 jaar. Op volwassen leeftijd verdwijnen de leverafwijkingen niet; er treedt een toename op van de hoeveelheid bindweefsel in de lever en er blijven reuscellen aanwezig. In de neonatale periode toont de leverhistologie een lichte toename van het bindweefsel, met soms een geringe galgangwoeking. Galcapillaren zijn in de meeste gevallen moeilijk te vinden; soms echter zijn de capillaren uitgezet en gevuld met gal of met een korrelig groen-bruin pigment. Ook worden reuscellen gezien: grote, meerkerige cellen, ten dele ook groen-bruin pigment bevattend. Het niet rangschikken van dit genetisch bepaalde ziektebeeld onder neonatale hepatitis motiveren Aagenaes c.s. door te wijzen op het verschil in prognose en het afwijkende ziekteverloop.

1.3.2 „Ziekte van Byler“

Door Clayton c.s. (1969) is een aantal gevallen van infaust verlopende galstase bij kinderen waargenomen, aangeduid met de naam „Byler disease“. De ziekte werd gezien bij zeven kinderen uit vier gezinnen, welke een onderlinge verwantschap vertoonden.

De belangrijkste klinische kenmerken zijn: wisselend sterke ikterus vanaf de leeftijd van enkele maanden, steatorrhoe en dwerggroei. Van de zeven kinderen zijn er reeds vijf overleden vóór het achtste levensjaar. Het pathologisch-anatomische onderzoek van levermateriaal (van twee patienten) toont geen reuscellen. Er wordt een proliferatie van intrahepatische galgangen waargenomen. Ten opzichte van de door Aagenaes beschreven ziekte vertoont „Byler disease“ wat betreft het klinische beeld en de histologische afwijkingen vrij duidelijke verschillen.

1.4 FAMILIAAL VOORKOMENDE ANATOMISCHE AFWIJKINGEN MET STUWINGSIKTERUS

1.4.1 Familiale extrahepatische galgangatresie

Volgens Nevin c.s. (1969) wordt familiale extrahepatische galgangatresie acht maal vermeld in de literatuur. Nevin beschrijft zelf twee broers, beiden lijdend aan extrahepatische galgangatresie. Hsia c.s. (1958) hebben in hun patientenmateriaal geen enkel geval van familiaal voorkomende galgangatresie gevonden, evenmin als Danks en Bodian (1963). Uit de gegevens die Nevin van zijn patienten verzameld heeft, valt niets

af te leiden over de etiologie van de ziekte. Kraus (1964) komt ook niet tot een hypothese over de etiologie van de extrahepatische galgang- atesie.

1.1.2 Familiale intrahepatische galgangatesie

Familiale IHGA is beschreven door Sweet (1932), Alagille e.a. (1969), en Ghislaudi en Mac Mahon (1970). Van de gevallen die Wilbrandt (1965) heeft gepubliceerd, is het op grond van de vermelde gegevens niet met voldoende zekerheid te beoordelen of het daarbij werkelijk een intrahepatische galgangatesie betroffen heeft. In hoofdstuk 2 zal nog nader worden ingegaan op het familiale voorkomen.

1.1.3 Het voorkomen van anatomische afwijkingen aan de galwegen en hepatitis of cirrhose in één gezin

Uit publikaties van Alagille (1968; 1969) blijkt dat in één gezin naast extrahepatische galgangatesie, ook aangeboren leverziekten kunnen voorkomen, waarbij de intra- en extrahepatische galwegen niet atetisch zijn maar waarbij als diagnose gesteld wordt: neonatale hepatitis of cirrhose. Het is niet mogelijk om op grond van de bevindingen van Alagille na te gaan of aan het verschil tussen beide ziektebeelden ook een verschillende etiologie ten grondslag ligt. Hierbij moet echter wel opge merkt worden dat in de publikaties van Alagille met voldoende gegevens vermeld zijn, op grond waarvan de diagnose histologisch gelundeerd kan worden.

Trisomie 17-18 kan met verschillende soorten neonatale leverziekten gepaard gaan; dit is er een aanwijzing voor, dat een genetische afwijking zich op verschillende wijzen kan manifesteren, met name in extrahepa- tische galgangatesie en in neonatale hepatitis. (Alpert 1969)

Resumerend moet er op gewezen worden dat de bovenstaande ziekte- beelden vaak niet scherp omschreven zijn en dat men er vaak niet in slaagt om een bepaald ziektegeval, dat gepaard gaat met een stuwings- geelzucht, met zekerheid in een van de groepen in te delen. De oorzaak van die moeilijkheid is gelegen in het feit dat er vaak overlapping van symptomen is. Bovendien kent men van vrijwel geen enkel van de bo- venbeschreven ziektebeelden de etiologie.

De sterke diversiteit van de in de literatuur beschreven gevallen van IHGA doet vermoeden dat IHGA niet één enkele etiologie bezit, doch daarentegen een reactie is van de zich ontwikkelende intrahepatische galgangen, of reeds aangelegde intrahepatische galgangen, op verschil- lende noxen. De studie van de neonatale leverziekten wordt mede daar- door bemoeilijkt; op de eerste plaats kan eenzelfde pathologisch-anato- mische afwijking een verschillende etiologie hebben (bijv. hepatitis), en

bovendien kunnen verschillende pathologisch-anatomische afwijkingen eenzelfde etiologie bezitten (bijv. hepatitis en galgangatresie, beide worden beschreven bij trisomie 17-18).

In hoofdstuk 2 volgt nu een literatuuroverzicht over IHGA. Daarbij zullen zowel de familiale als de niet familiale gevallen betrokken worden, omdat in ons eigen patientenmateriaal beide vormen voorkomen (zie hoofdstuk 6).

LITERATUUROVERZICHT VAN INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE

2.1 OPSOMMING VAN GEPUBLICEERDE GEVALLEN

Alvorens over te gaan tot de bespreking van ziekteverschijnselen en biochemische en pathologisch-anatomische bevindingen bij IHGA wordt eerst een opsomming gegeven van de gepubliceerde gevallen.

In plaats van de naam „intrahepatische galgangatresie“ wordt ook gebruikt „hypoplasie van de intrahepatische galgangen“ (Ijssel de Schepper en van Gelderen 1969). Met deze laatste benaming wordt de ernst van de aandoening meer gerelativeerd. Dit is ons inziens juist, daar er in vrijwel geen enkel geval een volledig ontbreken van de intrahepatische galwegen wordt beschreven.

Ahrens e.a. (1951) zijn volgens Haas en Dobbs (1958) de eersten geweest, die de ziekte gedetailleerd beschreven hebben. Ahrens e.s. verzamelden bovendien een aantal gevallen uit de literatuur: bij twee daarvan stond volgens Haas en Dobbs de diagnose onomstotelijk vast. Tot en met 1970 zijn in totaal drieëntwintig patiënten met IHGA beschreven. In tabel 1 zijn een aantal gegevens uit de ziektegeschiedenissen en resultaten van onderzoeken die verricht zijn bij deze patiënten, verzameld. De klinische kenmerken worden nader besproken in de volgende paragraaf. De uiteindelijke prognose is beduidend beter dan de prognose van de extrahepatische galgangatresie, ofschoon toch een aantal patiënten lijdende aan IHGA, blijkt te overlijden voor het eind van het eerste levensjaar. Zoals te zien is in tabel 1 zijn de gegevens over de patiënten niet steeds even compleet. Een uitslag van een peroperatief cholangiogram is slechts in een deel van de gevallen bekend. Bovendien wordt zelden een mededeling gedaan over de grote intrahepatische galwegen. Een speciale moeilijkheid wordt opgeleverd door het feit dat het ontbrekende deel van de intrahepatische galgangen met verschillende namen wordt aangeduid zoals: „portal“, „intrahepatic“ en „terminal“.

In de hierna volgende paragrafen zullen klinische, biochemische en histologische bevindingen bij de patiënten die in de literatuur zijn beschreven, systematisch behandeld worden.

In tabel 2 zijn klinische en biochemische gegevens weergegeven. Zoals te zien is, komen obstructie-ikterus en hepatomegalie bij alle beschreven patiënten voor. Het sterk fluctuerende karakter van de ikterus bij IHGA, waar in het voorafgaande reeds op gewezen werd, komt in de uitdrukking: „hoogste bilirubinewaarde gevolgd door lagere waarde” duidelijk naar voren.

Het volgende symptoom, de xanthomatosis, komt bij ongeveer de helft van de patiënten voor. Het voorkomen van hypercholesterinemie blijkt dus niet geheel parallel te verlopen met het aanwezig zijn van xanthomen. Pruritus en groei stoornissen blijken bij IHGA frequent gevonden te worden. Een verhoogde bloedingsneiging is in de literatuur bij acht patiënten opgegeven. Biochemische gegevens blijken in een vrij groot aantal publikaties te ontbreken. De meest constante laboratorium bevinding, naast de hyperbilirubinemie en hypercholesterinemie is een verhoging van de alkalische fosfatase.

Resumerend blijkt dat de volgende klinische symptomen in frequente mate gevonden worden bij IHGA:

1. stuwingsikterus, meestal in de eerste levensweek beginnend.
2. hepatomegalie, eveneens vroeg optredend en vaak bij het eerste gericht onderzoek al vastgesteld.
3. groeiachterstand.
4. pruritus, tijdstip van optreden wisselend: van de leeftijd van enkele dagen oud (Haas 1958) tot ouder dan 1 jaar (Ahrens e.a. 1952).
5. xanthomatosis, het vroegst beschreven op de leeftijd van 7 maanden.

Na de klinische kenmerken van IHGA kunnen de biochemische bevindingen als volgt worden samengevat:

1. matige hyperbilirubinemie met een hoog percentage geconjugeerd bilirubine; deze hyperbilirubinemie kan geheel verdwijnen.
2. lichte tot matige stoornis van de overige leverfunctieproeven. De alkalische fosfatase en de transaminasen zijn niet bij alle patiënten bepaald. Verder worden nog in enkele publikaties waarden opgegeven voor de thymoltroebelingstest of andere serum uitvlokkingsproeven.
3. sterke hyperlipaemie, betrekking hebbend op het cholesterolgehalte, terwijl ook in enkele publikaties een verhoging van het fosfolipidengehalte en het gehalte aan neutrale lipiden wordt vermeld. Volgens Ahrens (1951) zijn de fosfolipiden het sterkst verhoogd, en in mindere mate het vrije cholesterol. De cholesterolesters en de triglyceriden zijn matig verhoogd. Ondanks de hyperlipaemie is het serum van de nuchtere patient helder; men schijnt dat toe aan de fosfolipidenverhoging (Ahrens e.a. 1951, Mac Mahon e.a. 1952).

Tabel 1 Enkele belangrijke gegevens van de gepubliceerde gevallen van intrahepatische galgangangenen

Auteur	Begin ikterus	Eerste ver- melding van xanthomen	Overlijden	Kleine intrahepatische galgangen
1 Dahl Iversen (1944)	1e dag	—	1e dag	in 42 van de 50 porta- drichhoekjes geen galgangen
2 Saciez (1946)	8e dag	—	3½ jaar	in ± 90 van de 100 porta- drichhoekjes geen galgangen
3 Ahrens (1950)	1e week	1¾ jaar	3½ jaar	geen intrahepatische gal- gangen („intrahepatic“)
4 Ahrens (1950)	2e dag	3½ jaar	—	geen intrahepatische gal- gangen („intrahepatic“)
5 Mac Mahon (1952)	8e dag	6 jaar	—	geen interlobulaire gal- gangen („interlobular“)
6 Moyson (1953)	3 maanden	—	—	geen intrahepatische gal- gangen („intrahepatic“)
7 Sass Kortsak (1956)	3e dag	—	3½ maand	in 195 van de 500 porta- drichhoekjes geen galgang
8 Haas (1958)	2e dag	1⅔ jaar	2¾ jaar	geen intrahepatische gal- wegen („intrahepatic“)
9 Haas (1958)	4e dag	3⅓ jaar	—	geen intrahepatische gal- wegen („intrahepatic“)
10 Cotton (1960)	1e week	± 1 jaar	—	leeftijd van 5 maanden gal- gangproliferatie leeftijd van 6 jaar ontbre- ken van portale galgangen
11 Rosenthal (1961)	neonatale periode	7 maanden	3½ jaar	geen interlobulaire galgan- gen („interlobular“)
12 Vermassen (1962)	4e dag	—	—	geen interlobulaire galgan- gen geen schakelstukken
13 Pilloud (1966)	neonatale periode	—	—	in de helft van de porta- drichhoekjes geen galgangen

— niet vermeld of niet verricht

Extrahepatische galwegen	Exploratie galwegen	Grote intrahepatische galwegen (ductus hepaticus en grote takken daarvan)	Intrahepatische galwegen (operatief cholangiogram)	Bijzonderheden
normaal	1e levensdag	ten dele normaal	—	
hypoplastisch, deels atretisch	3½ jaar	—	—	cong afw a. pulmonalis
li ductus hepaticus atretisch	3½ jaar	macroscopisch niet waarneembaar	—	
ductus hepaticus niet doorgankelijk; ductus choledochus open	4 jaar	—	niet gevuld	
normaal	10 jaar	—	niet gevuld	
normaal	± 1 jaar	—	niet gevuld	
normaal	3½ maand	open (bij autopsie)	—	
normaal	2½ jaar	—	—	
normaal	16 dagen	—	—	
hypoplastisch	5 mnd en 6½ jaar	—	—	
normaal	3½ jaar	vernauwd, niet te sonderen	—	
ductus hepaticus hypoplastisch	4 jaar	—	niet gevuld	souffle in corde; congenitale afwijking a. pulmonalis
hypoplastisch	35 dagen	—	—	

Auteur	Begint ikterus	Eerste ver- melding van xanthomen	Overlijden	Kleine intrahepatische galgangen
11 Shapiro (1966)	10e dag	15 maanden	—	geen galgangen in porta- drichhoekjes
15 Van Greveld (1966)	enkele dagen \pm 20 post partum	maanden	3 jaar	geen portale galgangen („portal”)
16 Ito (1967)	2e dag	\pm 1e jaar	—	geen portale galgangen („portal”)
17 IJssel de Schepper (1969) casus 1	1 jaar	—	—	sterke vermindering van aantal intrahepatische gal- gangen
18 IJssel de Schepper (1969) casus 2	1 jaar	—	—	sterke vermindering van aantal intrahepatische gal- gangen
19. Alagille (1969) casus 4	2e dag	3e jaar	—	afwezigheid van interlobu- laire galgangen
20 Alagille (1969) casus 5	3e dag	—	—	afwezigheid van portale galgangen
21 Alagille (1969) casus 7	1 maand	—	5 jaar	in 8 van de 10 portadri- ehoekjes geen galgangen
22 Gherardi (1970)	\pm 5e week	—	14 weken	afwezigheid van kleinste („terminal”) galgangen galstase; lichte fibrose
23 Gherardi (1970)	3 maanden	—	9 maanden	afwezigheid van portale gal- gangen in perifere leverge- bieden („portal”)

— niet vermeld of niet verricht

Extrahepatische galwegen	Exploratie galwegen	Grote intrahepatische galwegen (ductus hepaticus en grote takken daarvan)	Intrahepatische galwegen (operatief cholangiogram)	Bijzonderheden
normaal	3 maanden	—	—	mogelijk coarctatio aortae
normaal	7 weken	—	—	souffle in corde
ductus hepaticus niet doorgankelijk; stenose of atresie	22 maanden	—	met gevuld	
normaal	1½ jaar	—	—	
—	niet aan-gegeven	—	—	
normaal	3 jaar	—	gevuld	drie andere kinderen uit gezin obst. ikterus
hypoplastisch	3 maanden; 5 jaar	—	geen passage vanuit galblaas	zus: extrahepatische galgangatresie
normaal	8 maanden; 2 jaar; 2½ jaar	hypoplastisch	gevuld	zus: extrahepatische en intrahepatische galgangatresie
hypoplastisch	7 weken	hypoplastisch	gevuld	broer (casus 23): dezelfde ziekte
hypoplastisch	3 maanden	hypoplastisch	—	zie 22

Tabel 2 Klinische en biochemische bevindingen bij intrahepatische galgangatose

Auteur	Obstruktie ikterus	Hepato megalie	Xantho matosis	Pruritus	Groei stoornis	Verhoogde bloedings neiging
1 Dahl Iversen	+	+	n o	n o	xx	n o
2 Sacrez	+	+	—	n o	+	n o
3 Ahrens	+	+	+	+	+	+
4 Ahrens	+	+	+	+	—	—
5 Mac Mahon	+	+	+	n o	+	+
6 Movson	+	+	—	n o	+	n o
7 Sass-Kortsak	+	+	—	n o	—	n o
8 Haas	+	+	+	+	+	+
9 Haas	+	+	+	+	—	n o
10 Cotton	+	+	+	+	+	+
11 Rosenthal	+	+	+	n o	+	+
12 Vermassen	+	+	—	+	+	—
13 Pilloud	+	+	—	n o	+	n o
14 Shapiro	+	+	+	+	+	+
15 Van Grevelde	+	+	+	+	+	—
16 Ito	+	+	+	+	+	n o
17 IJssel de Scheppen	+	+	—	+	+	n o
18 IJssel de Scheppen	+	+	+	+	—	+
19 Alagille casus 4	+	+	+	+	+	n o
20 Alagille casus 5	+	+	—	+	+	n o
21 Alagille casus 7	+	+	—	+	+	n o
22 Gherardi	+	+	n o	n o	+	+
23 Gherardi	+	+	n o	n o	+	n o

* $\mu\text{mol/l}$ + aanwezig n o niet opgegeven — afwezig = normaal ↑ verhoogd
 xx patiënt leefde slechts een half uur

Serum bilirubine,* hoogste waarde, gevolgd door lagere waarde		SGPT en/of SGOT	Alkalische fosfatase	Hemol toe belingstest	Verhoogd fosfo lipidengehalte serum	Hypercholes terinemie
n o	xx	n o	n o	n o	n o	n o
n o	n o	n o	n o	n o	n o	n o
377	n o	n o	n o	=	+	+
176	92	n o	n o	n o	+	+
46	n o	n o	↑	↑	+	+
417	n o	n o	↑	=	-	+
171	77	n o	↑	=	+	+
232	n o	n o	↑	=	n o	+
77	n o	n o	↑	=	n o	+
104	13	↑	↑	=	n o	+
195	107	n o	↑	↑	+	+
120	26	=	↑	↑	n o	+
274	79	↑	↑	=	n o	+
241	n o	↑	↑	n o	n o	+
202	130	↑	↑	↑	n o	+
342	n o	↑	↑	n o	+	+
36	< 14	=	↑	n o	n o	+
207	< 14	↑	↑	n o	n o	+
n o	-	n o	n o	n o	n o	+
253	137	n o	↑	↑	n o	+
214	50	↑	↑	↑	n o	+
551	n o	↑	=	n o	n o	n o
157	86	↑	↑	n o	n o	n o

Omdat bij galstase een verhoging van het serumgalzoutengehalte een normaal verschijnsel is, is zulks ook bij IHGA te verwachten. Een bepaling van serum galzouten is echter bij geen van de patienten opgegeven. In hoofdstuk 5 worden de galzoutenconcentraties van het serum van de door ons zelf onderzochte patienten vermeld.

2.3 PATHOLOGISCH-ANATOMISCH KENNMERKEN VAN INTRAHEPATISCHE GALGANGAVERSIE

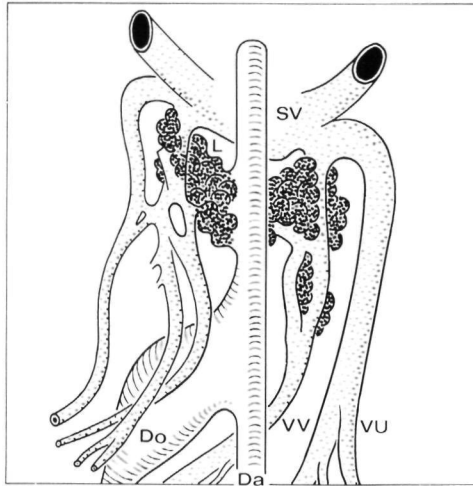
2.3.1 Ontwikkeling van de menselijke lever (Elias en Sherrick 1969, Severn 1971, 1972)

De lever is in eerste aanleg afkomstig van verschillende kiembladen, namelijk van entoderm en mesoderm. In het menselijke embryo van 4 mm kop-stuit is het leverdiverticulum reeds aanwezig, d.i. een uitstulping van de ventrale zijde van de oerdarm waar deze overgaat in de dooierzak. Het leverdiverticulum groeit uit in het septum transversum, een mesodermaal vormsel bestaande uit mesenchym, waarin zich een vaatplexus bevindt, uitgaande van de venae vitellinae (figuur 1 en 2). Het entodermale epitheel van de darm vormt samen met mesothecellen, afkomstig van de wand van de coeloomholte, het uiteindelijke muralium van de lever. Een muralium is een systeem van onderling verbonden cellagen; het levermuralium van de volwassene is een muralium simplex bestaande uit cellagen (laminae hepatis) die één cel dik zijn. De embryonale lever bestaat uit een muralium multiplex d.w.z. de laminae hepatis zijn meerdere cellagen dik. Tijdens de groei van het embryo en ook nog na de geboorte vindt de overgang plaats naar het volwassen type waarbij een muralium simplex wordt gevonden. Op de leeftijd van ± 5 jaar is deze ontwikkeling voltooid (figuur 3).

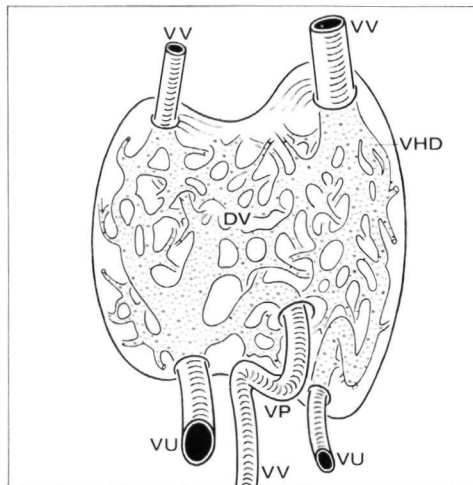
Ontwikkeling van extra- en intrahepatische galwegen.

Er zijn geen zekere bewijzen voor de algemeen geldende opvatting dat de extrahepatische galwegen uit het leverdiverticulum ontstaan en volgens Elias en Sherrick (1969) is dat ook niet in overeenkomst met de werkelijkheid en worden galblaas en ductus hepaticus aangelegd als aparte uitstulpingen van de darm. Reeds in een vroeg stadium (7,5 mm embryo, 5 weken) is een galblaas aanwezig, via een open buis verbonden met de darm. In dit stadium bezit de voorloper van de ductus hepaticus geen lumen. Twee weken later (18,5 mm embryo, 7 weken) kan behalve de galblaas een begin gezien worden van de aanleg van de intrahepatische galwegen. Vanuit de gang die galblaas met darm verbindt, groeien één of enkele buizen het primitieve leverparenchym binnen (figuur 1). Waar deze buizen in contact komen met levercellen gaan

deze over in epitheelcellen. Er is geen verdere uitgroei waar te nemen van de buizen vanaf het punt van contact met het leverparenchym. „There is no slightest evidence of sprouting and pushing on the side of the duct”. (Elias and Sherrick 1969).

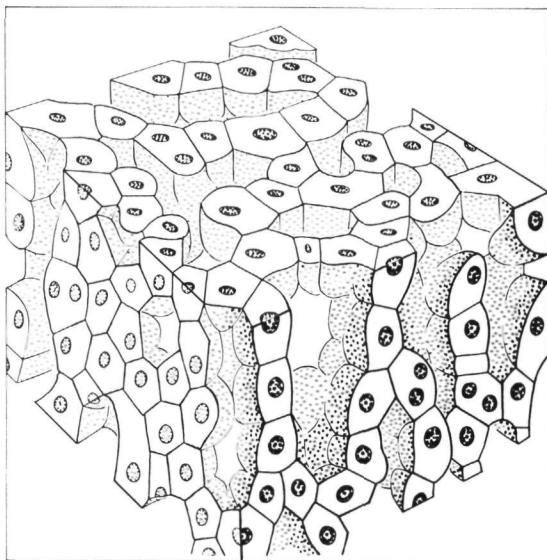


Figuur 1. Leverdiverticulum (L) menselijk embryo (4 mm kop-stuit); SV: sinus venosus; Do: dooierzak; VV: vena vitellina; VU: vena umbilicalis; Da: darm. Naar Elias en Sherrick (1969).



Figuur 2. Leveraanslag menselijk embryo (7.5 mm kop-stuit). VV: vena vitellina; VHD: vena hepatica dextra; VU: vena umbilicalis; VP: vena portae; DV: ductus venosus. Naar Elias en Sherrick (1969).

Het uit leverparenchym getransformeerde epitheel rangschikt zich in platen die twee cellagen dik zijn. In dit stadium bestaat dus het intrahepatische galgangstelsel uit deze twee-cellagige plaat. In de plaat wordt daarna een lumen zichtbaar in de buurt van het einde van de ductus hepaticus ten gevolge waarvan in weefselcoupees twee lumina te vinden zijn: één van de vertakte ductus hepaticus en één van de intrahepatische gang die uit de dubbele epitheellaag is ontstaan. Men ziet het plaveisel-epitheel verder naar de periferie overgaan in leverparenchym. Elias (1967) betitelt deze wijze van inductie tot galgangepitheel met de term: *recruitering* (*recruitment*). Daarmee wordt aangegeven dat een bepaalde weefselsoort (hier galgangen) een ander weefsel (hier parenchymcellen) doet veranderen in de eerste weefselsoort, zodat dus parenchymcellen veranderen in galgangepitheel. Elias (1969) vond dat deze eerste aanleg van het intrahepatische galgangstelsel in de 6^e à 7^e week begint. De verdere differentiatie van de epitheelplaten gaat retrograad van de porta hepatis voort langs de takken van de vena portae; daardoor zijn de jongste stadia de meest distale vertakkingen van de intrahepatische galgangen.

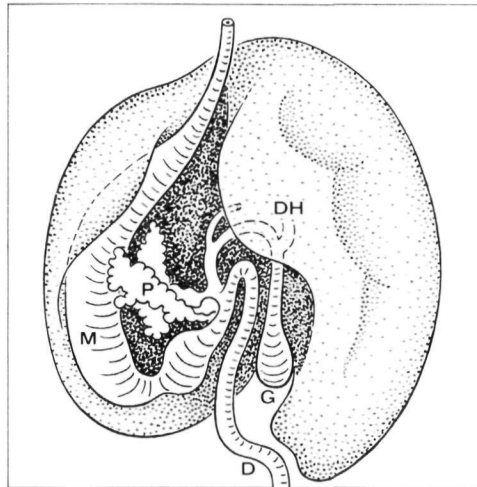


Figuur 3. Muralium simplex. Naar Elias en Sherrick (1969).

Volgens recente onderzoeken van Severn (1971, 1972), uitgevoerd aan de hand van een groot aantal menselijke embryo's zou de klassieke opvatting van Thompson (1908) over het ontstaan van het leverdiverticulum als een uitstulping van de darm niet geheel conform de werkelijk-

heid zijn. Severn (1971) heeft namelijk gevonden dat de eerste aanleg van het leverdiverticulum gezamenlijk met een deel van de primitieve voordarm als een verdikte epitheel laag te onderscheiden is van het epitheel van de dooierzak. Die verdikte epitheel laag plooit zich in samenhang met de zich ontwikkelende structuren in de omgeving (hart, diafragma) tot uiteindelijk een herkenbaar diverticulum ontstaat. Het belangrijke verschil tussen beide opvattingen bestaat daarin, dat volgens de klassieke theorie de primitieve darm gevormd wordt waarna een uitgroeiing plaats vindt van het leverdiverticulum, terwijl volgens Severn (1971) een gelijktijdig ontstaan van de primitieve voordarm en van het leverdiverticulum aangenomen moet worden.

In tegenstelling tot wat Elias (1969) meent over de galblaasaanleg geeft Severn (1971) als zijn opvatting te kennen dat de galblaas wel uit het leverdiverticulum ontstaat. De aanleg van de galblaas zou namelijk volgens laatstgenoemde auteur het meest caudale deel van het leverdiverticulum zijn. Tenslotte wordt volgens Severn (1972) de eerste aanleg van de ductus hepaticus gevormd door een zich versmallend gedeelte van het leverdiverticulum tussen het craniale deel van het leverdiverticulum en de primitieve galblaas.

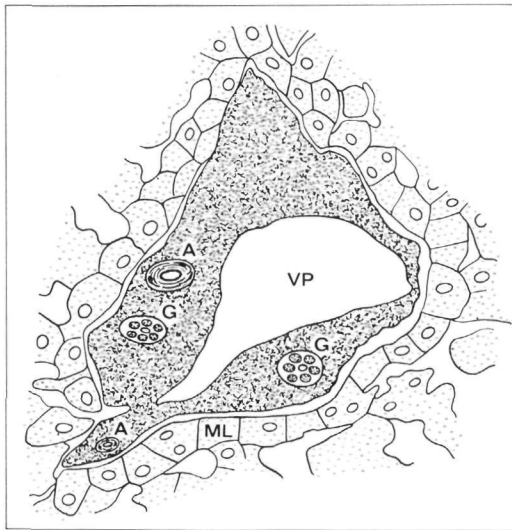


Figuur 4. Aanleg van lever en galwegen bij menselijk embryo van 7 weken (18,5 mm kop-stuit). DH: ductus hepaticus; M: maag; G: galblaas; D: darm; P: pancreas. Naar Elias en Sherrick (1969).

2.3.2 Microscopische anatomie van normaal leverweefsel en van lever bij intrahepatische galgangatresie

Microscopisch onderzoek van een willekeurige doorsnede door het leverparenchym toont de volgende structuren:

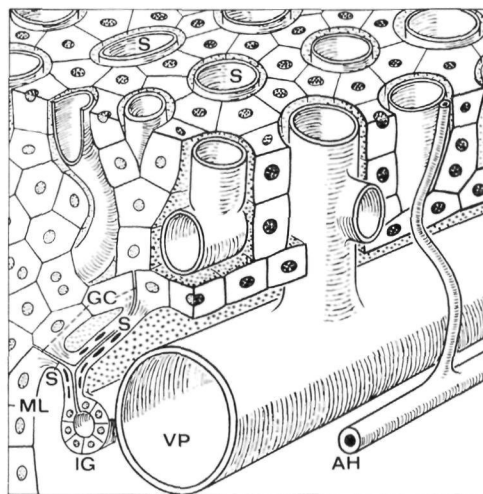
1. Leverlobuli of leverkwabjes. Dit zijn groepen parenchymcellen, radiaal gerangschikt rond de vena centralis, een tak van de vena hepatica.
2. De driehoekjes van Kiernan of portadriehoekjes. Zij liggen tussen de leverlobuli en vormen daardoor voor een deel, de afscheiding tussen de lobuli onderling. In de portadriehoekjes liggen de takken van de arteria hepatica, van de vena portae en een galgang. De afscheiding tussen driehoekjes en lobuli wordt gevormd door een aaneengesloten laag levercellen, de membrana limitans (figuur 5).
3. De lacunae. Dit zijn ruimten tussen de leverparenchymcellen, die te zamen een muralium simplex vormen (zoals reeds boven vermeld). In de lacunae bevinden zich de door endotheel begrensde sinussen, door de gehele lever heen. De ruimte van Disse is de virtuele ruimte om de sinus heen (peri-sinusoidale ruimte). In de wand van de sinussen bevinden zich de Kupfferse cellen, platte, fagocyterende cellen, die deel uitmaken van het R.E.S. (figuur 6).



Figuur 5. Driehoekje van Kiernan. VP: vena portae (tak); A: arteria hepatica (tak); G: galgang; ML: membrana limitans. Naar Elias en Sherrick (1969).

De kleinste galvervoerende kanalen in de lever zijn de galcapillairen of canaliculi, begrensd door de celwanden van twee of drie parenchymcellen; zij worden gevormd door groeven, die uitgespaard zijn in deze begrensende cellen. De galcapillairen monden via de periportale ductuli (ook wel schakelstukken of kanalen van Hering genoemd) uit in de

interlobulaire galgangen, de kleinste galgangen die met een arteria hepatica- en een vena porta-takje verlopen. Een klein aantal canaliculi mondt eerst uit in intralobulaire galgangen, zeer dunwandige en nauwe gangen, die daarna in de periportale ductuli (kanalen van Hering) uitmonden. Het grootste deel van de canaliculi mondt echter uit in het canaliculaire net van de *membrana limitans*, welk netwerk eveneens in de periportale ductuli overgaat.



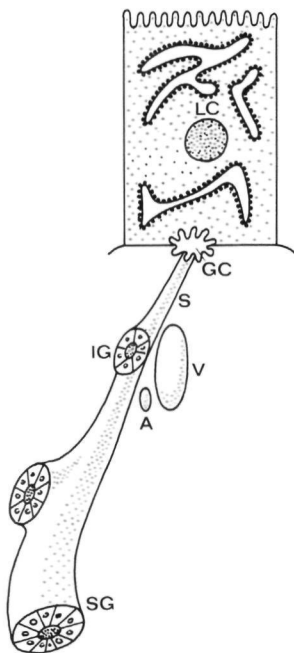
Figuur 6. Structuur van lever. VP: vena portae (tak); AH: arteria hepatica (tak); IG: interlobulaire galgang; S: schakelstuk (kanaal van Hering); ML: membrana limitans; GC: galcapillair; S: sinus. Naar Elias en Sherrick (1969).

De schakelstukken (of kanalen van Hering) bezitten plaveiselepietheel. De wanden van de interlobulaire galgangen bestaan daarentegen uit kubisch epitheel, terwijl de grotere intrahepatische galgangen een wand van cilindrisch epitheel hebben. De interlobulaire galgangen verenigen zich tot septale galgangen, die tenslotte uitmonden in de twee ductus hepatici. (Sherlock 1968, Elias 1969). (Figuur 7).

In de publikaties over intrahepatische galgangatresie wordt een nadere precisering van het ontbrekende deel van de intrahepatische galgangen vaak achterwege gelaten. Met name wordt vaak niet vermeld of de septale galgangen ook afwezig zijn. Het is vanzelfsprekend dat de meest exacte precisering van het ontbrekende deel der intrahepatische galwegen post mortem verricht kan worden, omdat elke biopsie en a fortiori een naaldbiopsie zeer beperkte lokale gegevens verschaft. Om dit bezwaar te ondervangen verdient het aanbeveling uit verschillende delen van de lever een biopsie te nemen. (Alagille 1969). Bij autopsie is het

echter een groot nadeel, dat de structuur van de lever sterk veranderd kan zijn ten gevolge van fibrosering, tijdens het verloop van de ziekte ontstaan.

Een afwezigheid van schakelstukken (kanalen van Hering) en afwezigheid van septale galgangen wordt slechts door enkele auteurs vermeld.



Figuur 7. Het intrahepatische galgangensysteem. LC: levercel; GC: galcapillair; S: schakelstuk (kanaal van Hering); IG: interlobulaire galgang; V: vena portae tak; A: arteria hepatica tak; SG: septale galgang. Naar Sherlock (1968).

Omdat er in de literatuur niet steeds sprake blijkt te zijn van een totaal ontbreken van de galgangen in de portadriehoekjes en er bovendien andere afwijkingen van de leverhistologie worden vermeld, is nagegaan hoe de quantitative gegevens zijn over het ontbreken van de interlobulaire galgangen en welke verdere pathologisch-anatomische kenmerken van het leverweefsel beschreven worden bij patiënten met IHGA. Het blijkt dat het enige constant aanwezige histologische kenmerk is: het ontbreken of in sterk verminderd aantal aanwezig zijn van de interlobulaire galgangen. Een belangrijk gegeven vinden we in de publikatie van Cotton (1960), die meedeelt dat er aanvankelijk bij de door hem beschreven patiënt in de portadriehoekjes een proliferatie van galgangen

wordt gezien, terwijl na verloop van vijf jaar blijkt dat de interlobulaire galgangen ontbreken. Ook Harris en Andersen (1960), die een aantal patienten d.m.v. verscheidene, achtereenvolgende leverbiopsiën gevolgd hebben, nemen een verdwijnen van interlobulaire galgangen waar tijdens het verloop van het ziektebeeld. Zij veronderstellen als oorzaak van het verdwijnen van galgangen een atrofïering, die een gevolg is van onvoldoende galstroom. Andere onderzoekers hebben daarentegen een toename geconstateerd van het aantal intrahepatische galgangen naarmate de patiënt ouder wordt (Sharp e.a. 1967).

De andere histologische afwijkingen van het leverweefsel welke beschreven worden bij IHGA zijn: galstase, ontsteking, fibrose en verandering van leverarchitectuur. Deze zijn in tabel 3 bijeen gezet. Het is opvallend dat er niet steeds een galstase wordt vermeld en dat bij een aantal patienten fibrose ontbreekt.

2.1 FAMILIAAL VOORKOMEN VAN INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE

Zoals in hoofdstuk 1 wordt medegedeeld is door Sweet in 1932 reeds van een familiaal voorkomen van intrahepatische galgangatresie melding gemaakt. Ahrens (1951) die de leverhistologie van twee van de door Sweet beschreven kinderen opnieuw bestudeerde, heeft bij beiden de diagnose bevestigd. Haas en Dobbs (1958) vinden de gegevens echter onvoldoende om zeker te zijn van de diagnose; dat neemt natuurlijk niet weg dat er toch een grote mate van waarschijnlijkheid bestaat dat het inderdaad wél de juiste diagnose is geweest. Alagille e.a. (1968) beschrijven eveneens een familiaal voorkomen van IHGA. Behalve het feit dat twee kinderen uit het door hen beschreven gezin lijdën aan IHGA, blijken twee overige kinderen uit hetzelfde gezin eveneens aan neonatale leverziekten te lijden en wel resp. aan intrahepatische galgangatresie en aan neonatale hepatitis. Deze waarneming van Alagille kan van groot belang zijn bij de bestudering van het genetische aspect van de neonatale leverziekten en in dit verband speciaal van IHGA.

De waarnemingen van Alagille suggereren dat er wel eens zekere etiologische overeenkomsten zouden kunnen zijn tussen intra- en extrahepatische galgangatresie. De mogelijkheid dat een „neonatale hepatitis” ook een mogelijke verwantschap zou kunnen bezitten met de intra- en extrahepatische galgangatresie moet wel met veel voorbehoud beoordeeld worden, omdat neonatale hepatitis een verzamelbegrip is voor velerlei neonatale leverziekten (Boon en Schretlen 1969).

Gherardi en Mac Mahon (1970) vermelden een voorkomen van de ziekte bij twee broers. Het ziekteverloop is bij beide patienten nagenoeg gelijk. Laatstgenoemde auteurs hebben op een vroeg tijdstip tijdens de ziekte een leverbiopsie verricht, namelijk op een leeftijd van respectievelijk 7 weken en 3 maanden. Zij hebben daarmee aangetoond dat het mor-

Tabel 3 Pathologisch anatomische afwijkingen bij IHG A *)

Auteur	Ontbreken van interlobu- laire galgan- gen	Galstase	Ont- steking	Fibrose	Necrose	Paren- chym structuur veran- deringen
1 Dahl Iversen	42/50**)	+	+	+	—	—
2 Sactez	90/100	n o	+	n o	—	±
3 Ahrens	niet gekwanti- ficeerd	+	(+)	(+)	n o	n o
4 Ahrens	7/7	+	(+)	(+)	n o	n o
5 Mac Mahon	niet gekwanti- ficeerd	+	+	(+)	n o	(+)
6 Moyson	„	+	+	+	n o	n o
7 Sass Kortsak	495/500	±	—	+	n o	—
8 Haas	niet gekwanti- ficeerd	+	+	(+)	n o	+
9 Haas	„	+	(+)	—	n o	n o
10 Cotton		+	—	—	n o	n o
11 Rosenthal	,	+	—	+	n o	(+)
12 Vermassen		—	—	+	n o	±
13 Pilloud		+	+	+	n o	n o
14 Shapiro	„	+	—	—	n o	n o
15 Van Creveld		n o	n o	n o	n o	n o
16 Ito	„	(+)	n o	(+)	n o	n o
17 IJssel de Scheppe	,	+	n o	n o	n o	n o
18 IJssel de Scheppe	,	+	n o	n o	n o	n o
19 Magille	12/12	—***)	—	±	n o	—
20 Magille	niet gekwanti- ficeerd	+	+	n o	n o	n o
21 Magille	8/10	+	+	±	n o	n o
22 Ghisardi	niet gekwanti- ficeerd	+	n o	+	n o	—
23 Ghisardi	„	+	±	+	n o	n o

*) + aanwezig (+) gering ± zeer gering — afwezig n o niet opgegeven

**) Met een breuk wordt aangegeven in hoeveel (teller) van de totaal (noemer) ge-
inspecteerde portaadichockjes geen interlobulair galgang is waargenomen

***) Deze patient vertoonde geen icterus op het tijdstip van afname van de biopsie

phologische substraat van de ziekte reeds vroeg aanwezig was. Zoals Ghazdar en Mac Mahon (1970) reeds opmerkten kan het feit van het familiële voorkomen van belang zijn bij het bestuderen van de etiologie.

2.5 MOET IJKEHEDEN BIJ HET STELLEN VAN DE DIAGNOSE INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE

De betekenis van een cholangiogram bij het stellen van de diagnose IHGA is niet groot. Wanneer durante operatione, na vulling van de galblaas met contrast, de grote intrahepatische galwegen zich niet retrograad vullen, kan men in dat geval niet meer zeggen dan dat er vanuit de galblaas geen communicatie is met mogelijk aanwezig zijnde intrahepatische galgangen. Er moet echter wel een voldoende hoge druk toegepast worden bij het maken van het cholangiogram. Een negatief cholangiogram is vanzelfsprekend dus niet bewijzend voor IHGA. Indien bij het histologische onderzoek van de lever blijkt dat het aantal interlobulair galgangen niet verminderd is, kan de diagnose dus niet gesteld worden op IHGA. Bij de meeste patienten met IHGA bij wie een operatief cholangiogram is gemaakt, werd geen vulling verkregen van de grote intrahepatische galwegen (zie tabel 1). Het is echter begrijpelijk dat men bij IHGA wel een vulling kan krijgen van de grootste intrahepatische galwegen omdat in de regel de atresie van de intrahepatische galwegen beperkt blijft tot de interlobulair galgangen.

2.6 THERAPIE BIJ INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE

In de publikaties over IHGA worden tot 1958 geen therapeutische maatregelen aangegeven, anders dan extra toediening van vitamine D en vitamine K. Hieronder volgt een opsomming van de verschillende medicamenten en therapeutische ingrepen die in de latere literatuur zijn beschreven.

Androgene hormonen

Haas en Dobbs (1958) beschrijven de toepassing van methylendioxyandrostenediol (Stenediol*) bij een van hun patienten welke behandeling een goed effect heeft op de priustus van de patient. Zij vermelden niet waar op deze werking berust.

Corticosteroiden

Magille e.a. (1968) behandelen de door hen beschreven patienten met corticosteroiden. Bij geen van de drie patienten treedt er echter een duidelijk effect op. Een motivering van het gebruik van de corticosteroïden

iden wordt niet gegeven. Het is echter bekend dat corticosteroiden een „white wash“ effect hebben op ikterus bij bepaalde vormen van cholestase (Sherlock 1968). Verder is bij proefdielen gebleken dat corticosteroiden een vergroting geven van de wateruitscheiding in de galcanaliculi en daardoor een vergroting van de hoeveelheid gal veroorzaken (Macarol et al. 1970).

Cholagoga

Magill et al. (1968) hebben getracht de galproductie bij enkele patiënten met IHGA op te voeren door middel van orale toediening van sorbitol en oroozuur. Bij een van hun patiënten gebruikten zij een hoeveelheid oroozuur van $1\frac{1}{2}$ gram per dag, terwijl van sorbitol geen dosering wordt aangegeven. Zij zagen van genoemde therapie echter geen enkel resultaat. Voor die tijd hadden Joannides en Magill (1966) bij zes patiënten met IHGA wel een klinische verbetering gezien bij de toepassing van cholagoga.

Uitwendige galdrainage

Eveneens door Magill et al. (1968) wordt uitwendige galdrainage toegepast bij twee patiënten met behulp van een T-drain. Bij een van beide patiënten resulteert deze ingreep in combinatie met cholagoga wel in een verbetering van de klinische toestand; de biochemische afwijkingen verbeteren echter niet. Nadat de drainage na zes weken is opgeheven, treedt er in een latere periode weer een achteruitgang op van de klinische toestand. Bij de andere patiënt, bij wie een uitwendige galdrainage wordt toegepast, is geen resultaat van deze ingreep merkbaar.

Cholecystojejunostomie

Bij dezelfde patiënt van Magill, die aanvankelijk gunstig gereageerd heeft op uitwendige drainage, wordt een cholecystojejunostomie aangelegd op de leeftijd van drie jaar. Na deze operatie is de pruritus tijdelijk minder en neemt de hyperlipemie af in ernst. Een gunstige invloed op de sterke groeiachterstand treedt echter niet op.

Cholestyramine (Cuevid[®], Questran[®])

De werking van cholestyramine berust op de eigenschap dat het galzouten in de darm bindt en daardoor de reabsorptie van galzouten van uit de darm sterk doet afnemen. Nadat Clev en Williams (1961) en van Itallie et al. (1961) het gebruik van cholestyramine bij de behandeling van pruritus door afsluitingsikterus beschreven hebben, maken

Lottsfeldt *et al.* (1963) voor het eerst gebruik van dit geneesmiddel bij IHGA. De laatst genoemde verkrijgen vermindering van de pruritus en een daling van het serum bilirubinegehalte. Bovendien neemt de broomsulphthalaine uitscheiding via de galwegen toe. Deze bevindingen wijzen dus op een verbeterde passage van gal van de hepatocyt naar de darm. Ook van Caeveld en Lim (1966) behandelen een patient lijdende aan IHGA, met cholestyramine. Bij een dosering van 6 gram cholestyramine per dag (bij een kind van 2 3 jaar oud) zien zij geen daling van het serumcholesterolgehalte. Nadat zij de dosis verhoogd hebben tot 12 gram per dag treedt er bij hun patient een duidelijke daling op van het serum cholesterolgehalte en een verdwijning van de pruritus. Na een periode van staken van de therapie zien zij weer een stijging optreden van het cholesterolgehalte. Deze stijging verandert in een daling tijdens opnieuw instellen van de therapie. Pilloud (1966) ziet geen significante klinische of biochemische verbetering optreden onder invloed van het gebruik van 4 gram cholestyramine per dag bij een patient met IHGA (leeftijd 12 jaar). IJssel de Schepper en van Gelderen (1969) bestuderen het effect van cholestyramine bij twee jongens met IHGA van respectievelijk 11 jaar en 6 jaar. Bij beide patienten zien zij een gunstig effect bij een dosis van 12 gram cholestyramine per dag. Bij verlaging van de dosis tot 9 gram dd. treedt bij de oudste jongen weer een toename op van de pruritus. Een van hun patienten blijkt als neven-effect een voorbijgaande obstipatie te vertonen. Magille *et al.* (1969) past bij zijn patient, nadat de uitwendige galdrainage is opgeheven, ook cholestyraminetherapie toe; dit eveneens een gunstige invloed heeft op de pruritus. Magille maakt geen melding van de bij zijn patient gebruikte dosering.

De belangrijkste ongewenste neveneffecten van de therapie met cholestyramine: gestoorde resorptie van vetoplosbare vitaminen en anorexie (Thompson 1971).

Fenobarbital

Fenobarbital heeft een positieve invloed op de afgescheiden hoeveelheid canaliculair water en activeert een aantal microsomale enzymen. Daardoor zou het een gunstige invloed kunnen hebben op galstase (Javit 1971).

Sharp en Mukin (1972) hebben bij een patient met zgn. „paucity of intrahepatic bileducts“ (IHGA) met fenobarbital behandeling een gunstig resultaat verkregen. Dit betreft zowel de klinische toestand als de biochemische afwijkingen. Zij zien in het duodenum een hogere concentratie galzouten en lecithine na toediening van fenobarbital.

Blijkens proeven met ratten neemt de galstroom toe onder invloed van fenobarbital doch zonder dat de synthese of de uitscheiding van galzou

ten toeneemt (Berthelot e.a. 1970; Paumgartner e.a. 1971). Dit zou dus het galzout-onafhankelijke compartiment van de gal betreffen. (zie hoofdstuk 3 sub. 2). Tot een dergelijke conclusie komt Klaassen (1971b) ook. Het is mogelijk dat een vergrote galstroom een gunstige invloed heeft bij de hypoplasie van de intrahepatische galgangen en een verdergaande atrophieëring van de galgangen tegengaat.

Recapitulerend kan gesteld worden dat cholestyramine reeds vrij vaak is toegepast bij de behandeling van IIIGA en dat het zeker als symptomatische therapie succes kan hebben. Daarnaast zou de toepassing van fenobarbital, doordat het de galstroom kan doen toenemen, als een essentiële therapeutische benadering gezien kunnen worden.

SAMENSTELLING EN SEKRETIE VAN GAL

3.1 BELANGRIJKSTE BESTANDDELEN VAN GAL

Behalve de belangrijkste bestanddelen bilirubine, galzouten, fosfolipiden en cholesterol bevat gal o.a. mineralen, eiwitten, aminozuren, meum, di- en triglyceriden, enzymen en koolhydraten. (Tabel 4). Als gemiddelde hoeveelheid dierge stof in levergal wordt voor volwassenen een waarde opgegeven van 20 (Bouchier e.a. 1965) tot ruim 33 gram per liter (Mihaescu en Mihaescu 1960). Voor blaasgal zijn die getallen respectievelijk 136 en 166 gram per liter volgens beide laatstgenoemde referenties. De totale galproductie van de volwassene bedraagt 250 tot 1100 ml per dag (Davenport, 1966).

Zuivere levergal wordt verkregen via een gallistel in de ductus hepaticus. Wanneer gal verkregen wordt via duodenaal sondage, bevat de vloeistof behalve gal ook pancreas- en darmsekreet. Galblaasgal die na toediening van een geconcentreerde magnesiumsulfaatoplossing verkregen wordt, waardoor een contractie van de galblaas optreedt, bevat eveneens darmsekreet.

Het galblaasvolume, dat bij volwassenen 50-65 ml bedraagt, is bij een kind van twee jaar slechts ongeveer 8,5 ml (Adam, 1951). Doordat in de galblaas indikking van de gal plaatsvindt, is de galblaasgal donkerder van kleur. Daan bij zuigelingen en jonge kinderen na inspuiten van magnesiumsulfaat tijdens duodenaal sondage vaak geen duidelijke kleurverandering van de verkregen gal optreedt, kan men zich afvragen of het concentrerend vermogen van de galblaas kleiner is op deze leeftijd; ook uit de resultaten van de bepalingen van eigen materiaal is gebleken dat de galzoutconcentratie van „B-gal” (galblaasgal) in veel gevallen niet hoger is dan van „A-gal” (de gal die opgevangen wordt vóór de contractie van de galblaas).

3.1.1 Galzouten

De galzouten, in humane gal aanwezig, zijn conjugaten van taurine en glycine met de vrije galzuren. Deze laatste zijn te onderscheiden in primaire (cholzuur en chenodesoxycholzuur) en secundaire (desoxychol-

Tabel 4 Samenstelling van gal volgens literatuur

	Leverschil		Galblaasgal	
	Gemiddelde waarde	Spreading	Gemiddelde waarde	Spreading
Volwassenen				
Bicarbonaat ¹⁾ mmol/l	30	—	19	—
Chloride ²⁾	100	(89-118)	31	(7-110)
Kalium ²⁾	5	(2-6-12)	13-5	(8-4-17-5)
Natrium ²⁾	118-9	(131-164)	220	(116-360)
Eiwit ³⁾ g/l	1-8	(1-4-2-7)	4-5	—
Bilirubine ⁴⁾ mmol/l	1-11	(0-21-2-31)	5-03	(0-62-10-8)
Fosfolipiden ²⁾	—	(1-1-6-01)	—	(21-71)
Cholesterol ²⁾	—	(2-0-4-6)	—	(8-0-42-6)
Galzouten ⁵⁾	8-1	(2-8-20-0)	121	(31-5-222)
Kinderen				
Cholesterol ¹⁾ mmol/l	—	(0-52-0-57)	—	(2-0-2-1)
Galzouten ²⁾ mmol/l				
1-4 dagen	10-7	(4-6-26-7)	—	—
5-7 dagen	11-3	(2-0-29-2)	—	—
7-12 maanden	8-8	(2-2-19-7)	—	—
4-10 jaar	3-1	(2-1-5-2)	—	—

1) Dietrich en Anders (1957)

2) Overgenomen uit Geigy Wissenschaftliche Tabellen 7e editie (1968)

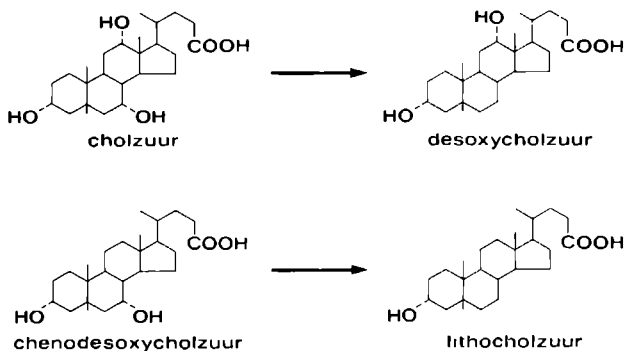
3) Polonowski en Bouillon (1952)

4) Boucher (1965)

5) Enticantz en Sjovall (1959) Sjovall (1960)

zuur en lithocholzuur). De secundaire galzuren worden door dehydroxylering door darmbacteriën gevormd uit de primaire galzuren (zie schema 1). De galzouten komen voor een deel door reabsorptie vanuit de darm via het portale circulatoire systeem weer in de gal (entero-hepatische kringloop, zie ook verder).

De hoeveelheid lithocholylaat die teruggeresorbeerd wordt uit de darm is echter klein, het grootste gedeelte wordt uitgescheiden met de faeces

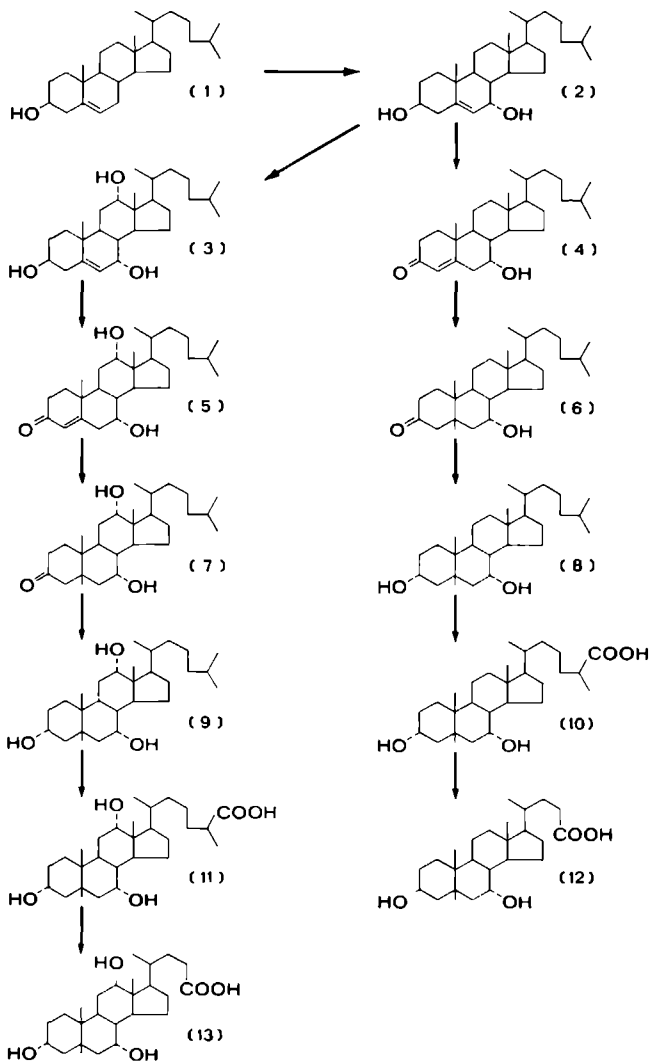


Schema 1 Omzetting van primaire galzuren in secundaire galzuren door dehydroxylering

De primaire galzuren worden in de lever gevormd uit cholesterol (schema 2). De hoeveelheid galzuren die dagelijks in de lever geproduceerd wordt, bedraagt bij volwassenen ongeveer 350 mg (Lindstedt 1962). De aanmaak van de galzuren wordt gereguleerd door de hoeveelheid galzuren die via de enterohepatische kringloop de lever bereikt en is ook afhankelijk van de hoeveelheid cholesterol die in de darm opgenomen wordt. Dit tweede regulatiemechanisme is wel bij een aantal diersoorten (bijv. rat) (Dietschy en Wilson 1970), doch niet bij de mens met zekerheid aangetoond.

In de levercellen vindt ook de conjugatie van de galzuren met taurine of glycine plaats. Deze koppeling is ook met humaan leverweefsel *in vitro* aangetoond (Ekdahl 1958). Het is gebleken dat in laeces vrijwel uitsluitend vrije galzuren voorkomen. De splitsing van de geconjugeerde galzuren gebeurt onder invloed van bepaalde darmbacteriën (bijv. bepaalde stammen van *Clostridium perfringens*, *Aerobacter aerogenes* en bepaalde enterococcus stammen) (Gustafsson e.a. 1957; Hofmann 1968). De lever conjugiert de uit de darm opgenomen vrije galzuren opnieuw, ook het secundaire desoxycholzuur.

De resorptie van galzuren vanuit de darm gebeurt op verschillende wijzen (Dietschy 1968). Op de eerste plaats is er actief transport van ongeconjugeerde en geconjugeerde galzuren in het ileum, welk transport maximaal is in het terminale deel van het ileum. Daarnaast is er ook een passief transport van ongeconjugeerde en geconjugeerde galzuren, respectievelijk via „passive non-ionic diffusion” en „passive ionic diffusion”. De ionisatiegraad onder diverse omstandigheden wordt bepaald door de pK waarde. De pK waarde van de geconjugeerde galzuren ligt belangrijk lager dan die van de ongeconjugeerde galzuren. Dientengevolge zijn deze laatste i.t.t. de geconjugeerde galzuren niet



Schema 2 Vorming van cholzuur en chenodesoxycholzuur bij de mens
 1 Cholesterol; 2 Cholest-5-en-3 β ,7 α -diol; 3. Cholest-5-en-3 β ,7 α ,12 α -triol; 4 7 α -hydroxy-cholest-4-en-3-on; 5. 7 α ,12 α -dihydroxycholest-4-en-3-on; 6 7 α hydroxy-5 β -cholestaen-3-on; 7. 7 α ,12 α dihydroxy-5 β -cholestaen-3-on; 8. 5 β -cholestaen-3 α ,7 α -diol, 9. 5 β -cholestaen-3 α ,7 α ,12 α -triol, 10 3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholestaen-3-ol (= dihydroxycoprostaanzuur); 11. 3 α ,7 α ,12 α trihydroxy-5 β -cholestaen-3-ol (= trihydroxycoprostaanzuur); 12. 3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholaanzuur (= chenodesoxycholzuur); 13. 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholaanzuur (= cholzuur).

geioniseerd bij de in de darm heersende pH. Het gevolg van deze verschillen in lading is, dat de passieve resorptie van de ongeconjugeerde, niet geioniseerde galzuren 5 tot 6 maal zo snel verloopt als van de geconjugeerde galzuren. Aangezien in het jejunum vrijwel geen vrije galzuren aanwezig zijn, is de passieve diffusie in het jejunum onder normale omstandigheden van weinig betekenis. Omdat de meeste studies over de resorptie van galzuren zijn gedaan bij proefdieren, moet een zekere reserve in acht genomen worden bij het trekken van conclusies over de galzuurresorptie bij de mens.

3 1.2 Fosfolipiden

Lecithine is een belangrijke, essentiële bouwsteen van de gemengde micellen in de gal (zie sub 3.2). Men heeft aanvankelijk gemeend dat lecithine het enige fosfolipide was in de gal (Polonovski en Bounillon 1952). Philips (1960) heeft echter aangetoond dat er ook kleine hoeveelheden cephaline (kwantitatief vrijwel gelijk te stellen met fosfatidylethanolamine) in gal voorkomen. Volgens Nakayama en Blomstrand (1961) komt er behalve lecithine ook fosfatidylserine, fosfatidylethanolamine en sphingomyeline in gal voor. Zij geven een lecithinegehalte op van $\pm 82\%$ van de totale hoeveelheid fosfolipiden. De meeste andere onderzoekers vinden echter een hoger percentage voor het lecithinegehalte. De totale hoeveelheid fosfolipiden in gal is opgegeven in tabel 4. In tabel 5 worden twee fosfolipiden analyses onderling vergeleken.

Tabel 5 Fosfolipiden-analyses van menselijke gal, uitgedrukt in procent fosfor van totaal lipidenfosfor

	<i>Nakayama en Blomstrand (1961)</i>	<i>Philips (1960)</i>
Lysolecithine	—*)	0.9
Sphingomyeline	2.5	—*)
Lecithine	81.4	96.9
Fosfatidylethanolamine**)	3.4	2.2
Rest	12.7	—*)

*) Geen waarde opgegeven

***) Opgegeven als cephaline

Het is van belang dat de gal door de onderzoekers, vermeld in tabel 5, werd opgevangen via een T-dam en dus niet in de darm terecht is gekomen, waardoor een omzetting van lecithine in lysolecithine voorkom-

men wordt, of althans minimaal is. In het jejunum wordt nl. vooral door de activiteit van pancreas-lipase een deel van het lecithine omgezet in lysolecithine.

Uit dierspoeven is gebleken dat een deel van het lysolecithine in de darmwand weer omgezet wordt in lecithine (Sato 1970; Stunders e.a. 1968).

Over de relatie tussen de uitscheiding van galzouten en fosfolipiden in de gal bestaat geen eensluidende mening. Swell e.a. (1968) menen dat de uitscheiding van fosfolipiden afhankelijk is van het beschikbaar zijn van galzouten, terwijl Nilsson en Scheersten (1969) hebben aangetoond dat galzouten de aanmaak van fosfolipiden kunnen stimuleren.

3.1.3 Cholesterol

Cholesterol komt in de gal vrijwel geheel voor in de vrije, niet veresterde vorm (Philips 1960; Nakayama en Johnston 1962). De cholesterolconcentratie in levergal bedraagt 2,0 tot 1,6 mmol/l bij volwassenen, terwijl voor kinderen wordt opgegeven 0,52 tot 0,57 mmol/l (zie tabel 1). Cholesterol wordt voornamelijk in de lever en de darm (ileum) gevormd. De cholesterol-productie is afhankelijk van stimulerende en remmende factoren. In hoofdstuk 1 wordt nog nader ingegaan op het ontstaan van hypercholesterinemie bij galstase.

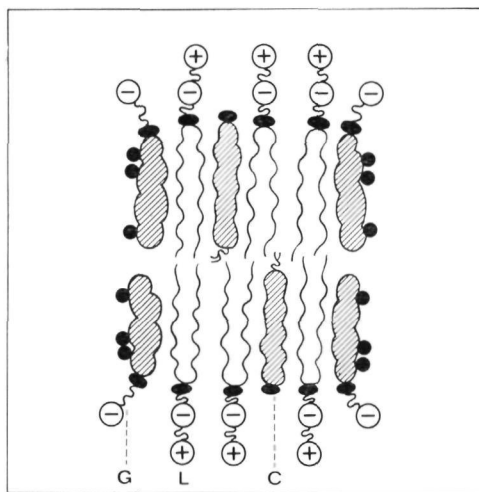
3.1.1 Overige bestanddelen van gal

Behalve de hierboven besproken bestanddelen die in gal voorkomen, galzouten, fosfolipiden en cholesterol, bevat gal nog een aantal andere substanties (zie tabel 1). Wat betreft de mineralen, is gebleken dat deze medebepalend zijn voor de hoeveelheid gevormde gal. De uitscheiding van het geconjugeerde bilirubine via de gal is voor de vorming van gal voor zover bekend niet van bijzonder belang.

3.2 FUNCTIE VAN GALZOUTEN BIJ DE VORMING EN SEKRETIE VAN GAL

Bij de vorming van gal door de levercellen spelen de galzouten een zeer belangrijke rol. Sperber (1959) neemt namelijk aan dat de eerste stap bij de galvorming een actief transport van galzouten vanuit de levercellen naar de canaliculi zou zijn. Daarbij bewerkstelligt het osmotische effect een passief transport van water naar de canaliculi. Behalve deze rol van „water-drager” door „locale osmose” hebben de galzouten een zeer belangrijke functie bij de vorming van de zgn. micellen in de gal. Micellen zijn polymoleculaire aggregaten van amfiele moleculen in water. Boven een zekere concentratie, de kritische micellaire

concentratie, vormen bepaalde amfifiele molekulen, zoals galzure ionen, micellen. In deze micellen kunnen cholesterol en ander amfifiele molekulen zoals fosfolipiden opgenomen worden. De minimale concentratie waarbij dat mogelijk is wordt genoemd: de kritische micellaire concentratie. Volgens Small (1969) kan men zich de micellen zoals zij voorkomen in de gal voorstellen als een aggregaat van lecithine-, galzouten- en cholesterolmolekulen met een polaire buitenzijde en een lipofiel centrum (figuur 8).



Figuur 8. Structuur van gemengde micel, bestaande uit lecithine, galzouten en cholesterol. G: galzout molecuul; L: lecithine molecuul; C: cholesterol molecuul. De dichte bollen stellen OH- of estergroepen voor; de open cirkels polaire, geladen groepen, de gearceerde figuren het steroidskelet en de gegolfde lijnen koolwaterstofketens. Naar Small (1969).

Men kan gal beschouwen als een quaternair systeem: cholesterol — lecithine — galzouten — water (Bourges e.a. 1967). (Figuur 9). Dit quaternaire systeem kan grafisch voorgesteld worden als een regelmatige tetraëder (Campbell en Smith 1951). Elk hoekpunt stelt een van de bovengenoemde componenten voor. Naarmate men een hoekpunt nadert neemt het percentage van de bij die hoek behorende stof toe (tot 100%). Wanneer men als waterpercentage bijvoorbeeld 90 kiest en men beschouwt de daarbij behorende doorsnede door de tetraëder, dan verkrijgt men een driehoek waarvan het middelpunt een watergehalte van 90% en een fosfolipidengehalte, cholesterolgehalte en galzoutengehalte van elk 3,3% aangeeft. Het is duidelijk dat in elk van de hoekpunten van de driehoek ook een waterpercentage van 90 geldt en een percentage van

10 van de bijbehorende stof. Om het punt te bepalen binnen de drie hock voor een gal van een bekende samenstelling worden de hoeveelheden galzouten, fosfolipiden en cholesterol uitgedrukt in mmol/liter. Daarna wordt de onderlinge verhouding berekend.

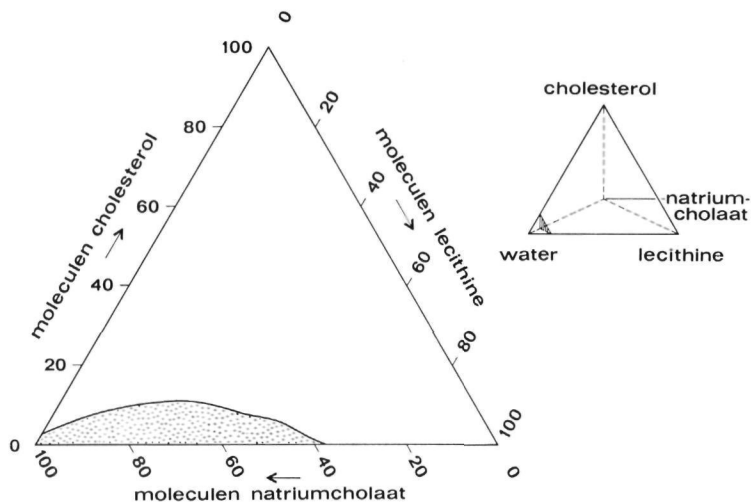
In het gestippelde gebied (zie fig. 9) komt er een micellaire fase voor. Buiten dit gebied is de verhouding van de drie samenstellende componenten van de micellen dusdanig gewijzigd dat er meer fasen ontstaan. Men ziet dat er in het een fase gebied met name slechts een geringe variatie mogelijk is voor het cholesterol. De oorzaak daarvan is gelegen in de omstandigheid dat de gemengde micel slechts een beperkte hoeveelheid cholesterol kan bevatten.

Bij normale galblaasgal waarvan het watergehalte ook ongeveer 90% is, valt het punt dat de verhouding tussen de drie componenten ringeet binnen het gestippelde gebied. Bij een aantal patiënten met galstenen is gebleken dat de onderlinge verhouding van de drie componenten zodanig is dat deze punten *buiten* het gestippelde gebied vallen (Admiral en Small, 1968). Bij watergehaltes van 80-95% is hetzelfde diagram bruikbaar. Bij watergehaltes van meer dan 97% blijken de micellen instabiel te worden. Volgens Hingreaves (1968) bedraagt het watergehalte van levergal 97-98%, bij welk gehalte de micelstructuur dus minder stabiel is.

Het eigenlijke proces van de galvorming ziet Popper (1969) als volgt: de villi in de canaliculi secretineren galzouten d.m.v. een actief transportproces, de taak van galzouten is, zoals reeds tevoren werd vermeld, een tweeledige, zij leveren namelijk een bijdrage tot de micellaire structuur en zij bewerkten het transport van water naar de canaliculus. De andere galsubstanties zoals lecithine en cholesterol worden waarschijnlijk vanuit de Golgi-zone van de hepatocyt door de wand van de canaliculus heen getransporteerd d.m.v. een proces van transmembranose. Behalve water gaan er bovendien o.a. natrium, kalium, chloride, en bicarbonaationen mee in de gal. De gal verandert daarna nog van samenstelling bij het transport door de galwegen en het verblijft in de galblaas, doordat er resorptie en secretieprocessen optreden. Volgens Erlinger (1968) zou door de galblaaswand o.a. natrium, chloor en bicarbonaat geïmporteerd worden terwijl in de extrahepatische galgangen secretie van onder andere bicarbonaat en water kan optreden, waarbij secretie een regulerende functie heeft. De stimulering van de galproductie door secretie gaat dan ook niet gepaard met een vermeerderde galzoutenproductie.

Erlinger (1968) onderscheidt twee galfrakties: een galzoutafhankelijke hepatocytfractie en een fractie die onafhankelijk is van de galzouten en die afkomstig is zowel van de hepatocyten als van het epitheel.

van de galgangen. Pissidis e.a. (1969) hebben in tegenstelling tot het boven vermelde in geïsoleerde, geperfundeerde kalfslevers onder invloed van sekretine zowel een verhoogde uitscheiding van taurocholaat met de gal, als een volume vermeerdering van gal verkregen. In hoeverre de keuze van het proefdier, het isoleren van de lever en de eventuele onzuiverheid van het gebruikte sekretine preparaat daarbij een rol spelen is een belangrijke vraag. Hierbij kan opgemerkt worden dat Erlinger (1968) vele van zijn experimenten verrichtte met honden.



Figuur 9. Driehoekig fasen-diagram verkregen door doorsnede van de regelmatige tetraëder die het quaternaire systeem (water-lecithine-cholaat-cholesterol) voorstelt. De doorsnede ligt bij een watergehalte van 90%. Naar elk der hoekpunten neemt het molaire percentage van de bij die hoek behorende stof toe tot 100%. In het gestippelde deel zijn de concentraties van de drie samenstellende stoffen zodanig dat er één soort micellen gevormd wordt.

Uit recente publikaties (Klaassen 1971; Erlinger 1971) blijkt dat de theorie van Sperber over de rol van galzouten als „waterdrager”, waarschijnlijk te simplistisch is. Klaassen (1971) heeft namelijk bij ratten aangetoond dat er onder verschillende omstandigheden een sterke variabiliteit bestaat in de galzoutenconcentratie van de, door de hepatocyt gesekreteerde gal. Daaruit kan men afleiden dat er, althans bij de rat, behalve galzouten nog andere stimulerende invloeden aanwezig zijn bij de vorming van gal. Klaassen noemt zelfs als mogelijkheid dat er een actief watertransport zou zijn.

Volgens Erlinger is echter een actief watertransport van de hepatocyt naar de canaliculus niet waarschijnlijk. Laatstgenoemde auteur

neemt aan dat er een actief natriumtransport is, waardoor een osmotische gradient ontstaat, die eveneens filtratie van water naar de canaliculus bewerkstelligt.

Behalve galzouten en mogelijk natrium-ionen vindt er ook secretie plaats van enkele negatief geladen stoffen zoals bilirubine en B.S.P. Hetzelfde geldt voor bepaalde organische kationen (procaineamide-ethylbromide) en sommige ongeladen stoffen, bijv. ouabaine. De meeste organische anionen zijn choleretisch, zij kunnen echter ook een cholestatische werking hebben zoals bekend is van lithocholzuur bij de hamster, en van chenodesoxycholzuur bij de rat en Bengaals rood bij het konijn. (Erlinger 1971)

Resumerend blijkt de samenstelling van gal dus een resultante te zijn van secretie van galzouten, fosfolipiden, cholesterol, bilirubine, water en anorganische ionen door de leverparenchymcellen, en van secretie en resorptie van anorganische ionen en water in galwegen en galblaas. De hoeveelheid door de parenchymcellen gescreteerde gal is daarbij voornamelijk afhankelijk van het aanbod van galzouten. Ook andere stoffen die actief door de levercellen worden uitgescheiden kunnen de gevormde hoeveelheid gal vergroten, terwijl de secretie van water en anorganische ionen in de galgangen onder invloed staat van secretine. De concentraties galzouten, lecithine en cholesterol in de gal zijn onderling in zekere mate gekorreleerd, gezien hun gezamenlijke vorming van polymoleculaire deeltjes, de zgn. gemengde micellen.

3.3 GALSAMENSTELLING BIJ ZUGELINGEN

Poley e.a. (1964) hebben galblaasgal van foeten en duodenaal gal van jonge zuigelingen onderzocht. Zij hebben o.a. vastgesteld, dat taurine-conjugaten bij de geboorte het grootste deel uitmaken van de galzouten. Bij de volwassene is de verhouding taurine-:glycine-conjugaten ongeveer 1 : 2 (Burnett 1965). De verhouding trihydroxy-, dihydroxy-galzuuren wisselt bij jonge zuigelingen volgens Poley (1964) van 1,5 tot 2. Bij volwassenen bedraagt dit quotient ongeveer 1 (Burnett 1965). De concentratie galzuuren in de duodenaalinhoud bedraagt bij zuigelingen van tien dagen gemiddeld 7 mmol/l, met een spreiding van 1 tot 11,7 mmol/l (Poley 1964).

Bij kinderen kan gedurende het eerste levensjaar geen desoxycholzuur worden aangetoond, mogelijk door het ontbreken van de daarvoor noodzakelijke bacterie flora in de darm, waar de dehydroxylering van cholzuur tot desoxycholzuur plaats vindt (Encrants en Sjovall 1959).

Bij zuigelingen met intrahepatische cholestase is door Norman e.a. (1969) een sterk algenomen galzuur concentratie in galblaasgal gevon-

den. Bij drie zuigelingen blijken in het laatstgenoemde onderzoek de waarden voor de totale concentratie galzuren te variëren van minder dan 0,01 mmol/l tot 0,17 mmol/l. Gepaard gaande met een verlaagde concentratie galzuren vinden Norman *et al.* ook een afname van de hoeveelheid cholesterol en fosfolipiden bij infantiele cholestatische icterus (Norman vergelijkt de galzuurconcentratie van galblaasgal van patiënten met duodenaal gal van normale zuigelingen).

GALSTASE

4.1 DEFINITIE VAN HET BEGRIIP GALSTASE EN BESCHRIJVING VAN DE MORFOLOGISCHE VERSCHIJNSLIJN

Volgens Popper (1968) kan galstase gedefinieerd worden als stagnatie van gal in de intra- en/of extrahepatische galkanalen met retentie van alle bestanddelen in het bloed. Vanzelfsprekend is de galstase bij IHGA intrahepatisch. In het volgende zal daarom alleen gesproken worden over intrahepatische galstase.

Aanvankelijk heeft de mening bestaan dat er bij intrahepatische galstase een afsluiting van de kleinere intrahepatische galwegen is. Dit is zuiver mechanisch gedacht.

In een latere periode heeft men aangenomen dat een primaire beschadiging van de ductuli (= schakelstukken) resorptie van gal veroorzaakt, waardoor pericholangiolitis ontstaat met secundaire mechanische beschadigingen.

Daarna zijn de inzichten echter opnieuw gewijzigd en Javitt en Arias (1967) drukken het tegenwoordige standpunt uit als volgt: intrahepatische galstase is het morfologische beeld dat ontstaat ten gevolge van een stoornis in de galsecretie. Ook door Schaffner en Popper (1969) wordt erop gewezen dat intrahepatische galstase in vele gevallen primair niet veroorzaakt wordt door een mechanische obstructie in de intrahepatische galwegen zoals vroeger gedacht werd, beide laatstgenoemde auteurs menen evenals Javitt en Arias (1967) dat intrahepatische cholestase meestal berust op een stoornis in het galsecernerende apparaat in de hepatocyten.

Histologisch onderzoek van het leverparenchym maakt soms geen onderscheid mogelijk tussen intrahepatische galstase bij ten gevolge van genesmiddelen en extrahepatische obstructie van de galafvoer, ook met behulp van electronenmicroscopisch onderzoek kan dan geen verschil aangetoond worden (Popper 1968). Ook Sherlock (1968) preferiert de term galstase boven obstructie. Ikterus, aangezien bij deze vorm van geelzucht meestal geen mechanische belemmering aangetoond kan worden in de galafvoerende kanalen. De gevallen van galstase ten gevolge van een duidelijke afsluiting van de galafvoer, bijvoorbeeld door een steen of een tumor vallen hier vanzelfsprekend buiten.

Galstase manifesteert zich morphologisch op de eerste plaats door ophoping van geel bruin pigment (geconjugeerd bilirubine²) in de leverparenchymcellen, de Kupfferse cellen en de galcanaliculi, die ten dele dilateren. De centro-acinieuze gebieden zijn vrijwel altijd het sterkst aangedaan. In een later stadium vertonen de parenchymcellen een „wolkige“ verandering van het cytoplasma (Wersbrod 1950).

Bij electronenmicroscopisch onderzoek blijken de galcanaliculi wijder te worden en een deel van de micro-villi te verliezen. De resterende microvilli worden vlak of oedemateus, de AIP-ase activiteit van de wand van de canaliculi neemt af. Het cytoplasma van de levercellen, die grenzen aan een verwijde galcanaliculus, wordt compacter en de hoeveelheid endoplasmatisch reticulum neemt in absolute hoeveelheid toe. Behalve galpigment worden gelamelleerde vormsels gezien, waarvan fosfolipiden vermoedelijk een belangrijk bestanddeel uitmaken. Het Golgi-apparaat vertoont vacuolisatie; het aantal lysosomen neemt toe en de mitochondriën veranderen van aspect, o.a. doordat de cristae omgekruld zijn (Schaffner en Popper 1967). Bovendien zijn functiestoornissen van de mitochondriën aangetoond bij cholestase (Scheersten c.a. 1966).

1.2 VOORKOMEN VAN INTRAHEPATISCHE GALSTASE (Sherlock 1966, 1968; Popper 1968)

Intrahepatische galstase komt voor bij:

- 1 Virushepatitis; alcoholische hepatitis
- 2 Als reactie op sommige geneesmiddelen (bepaalde anabole steroïden, phenothiazinepreparaten)
- 3 „Jaundice of late pregnancy“.
- 4 Benigne idiopathische recidiverende cholestase (Summerskill & Walshe 1959)
- 5 Primaire biliäre cirrhose in gevorderde stadia

Op de kinderleeftijd komt intrahepatische galstase o.a. voor bij:

- 1 Neonatale hepatitis.
- 2 Erfelijke recidiverende intrahepatische cholestase (Aagaard 1968)
- 3 Ziekte van Byler.
- 4 Tyrosinemie
- 5 Galactosemie
- 6 Alpha 1-antitrypsinedeficientie
- 7 Intrahepatische galgangatresie

De M. Dubin-Johnson behoort volgens de bovenstaande definitie van galstase niet tot de groep ziekten met intrahepatische galstase, omdat er bij deze ziekte, hoewel het direct reagerende bilirubinegehalte

van het serum wel verhoogd is, toch géén retentie van galzuren in het bloed bestaat. De ziekte wordt gekenmerkt door een gestoorde leverklaring van het bilirubine en kleinstoffen zoals broomsulphtaleïne, (de Fraitune 1960), maar de galzuuuitscheiding is niet gestoord (Popper 1969).

Wat betreft de biliaire cirrhose blijkt dat daarbij in het beginstadium reeds een ikterus kan bestaan, voordat galstase aanwezig is. In latere stadia, wanneer intrahepatische galgangen gaan verdwijnen, treedt er wel een galstase op. Intrahepatische galgangatesie is te vergelijken met latere stadia van primaire biliaire cirrhose. Bij deze beide laatstgenoemde ziekten is er in tegenstelling tot wat men vindt bij de andere ziekten met intrahepatische galstase een duidelijke anatomische obstructie aan te wijzen.

1.3 HET MECHANISME VAN GALSTASE

Popper (1969) neemt aan dat bij galstase zowel de transporterende functie van galzouten voor water, als ook de micelvorming gestoord is. Hij meent dat abnormale galzuu-metabolieten een antagonistische werking hebben op de functie van de primaire galzouten. In eerste instantie wordt bij galstase de vloeistofstroom geremd, wat zich morfologisch manifesteert door het verdwijnen van de microvilli; bovendien ontstaan er in de canaliculi galthrombi doordat de sekretie van o.a. lecithine en cholesterol via de transmembranose doorgaat en de gesecreteerde producten onoplosbaar worden doordat zij zich binden met in het lumen van de canaliculus nog aanwezige mucopolysacchariden.

Bij de galstase, die men kan zien als reactie op geneesmiddelen, zoals bepaalde steroïden, bestaat er aanvankelijk alleen een stoornis in de galsekretie van de hepatocyt. Deze stoornis heeft de bovengenoemde morfologische afwijkingen tot gevolg. Omdat de galzouten minstens 90% van de sekretie van het water en de electrolyten in de gal bewerkstelligen kan een stoornis in het galzoutenmetabolisme de sekretie van gal in belangrijke mate remmen.

Schaffner en Javitt (1966) hebben vastgesteld dat tauroolithocholaat, gemisceerd bij hamsters, galstase kan veroorzaken. Schaffner en Popper (1969) hebben als hypothese opgesteld dat ook bij de mens galstase veroorzaakt kan worden door een overmaat monohydroxygalzuren (o.a. lithocholzuur) in de gal, ten gevolge van een hypo-actief glad endoplasmatisch reticulum of door een gestoorde koppeling tussen de steroïdskelet-hydroxylering en de zijketen oxydatie, die beide noodzakelijk zijn bij de omzetting van cholesterol in galzuren.

De opvatting van Popper dat het primaire agens van intrahepatische galstase een cellulair dysfunctie is, staat tegenover de vroegere opvat-

tingen over galstase waarin men meer een mechanische obstructie aannam, ten gevolge waarvan de galafvoer geblokkeerd is. Bij de extrahepatische galobstructie en in geval van intrahepatische galstase die veroorzaakt wordt door een aantoonbare lokale obstructie, treedt volgens Popper (1968) ook een stoomnis van het galsecernerend apparaat in de hepatocyt op. Daardoor is, zoals reeds vermeld werd, op grond van histologisch onderzoek soms geen onderscheid mogelijk tussen de zuivere intrahepatische galstase en de extrahepatische mechanische galobstructie.

Hutterer e.a. (1970a) hebben aangetoond dat galzuren, met uitzondering van cholsuur in vitro in rattelever een irreversibele remming kunnen veroorzaken van een microsomaal gelokaliseerd cytochroom aangeduid als P_4-n . Dit cytochroom maakt deel uit van een systeem in de levermicrosomen, dat de oxydatie van een aantal geneesmiddelen en van bepaalde natuurlijk voorkomende stoffen verzorgt (Omura 1965). De resultaten die men in vitro verkrijgt zijn in overeenstemming met het effect dat galstase bij ratten in vivo te zien geeft; hierbij blijkt er nl. een negatieve correlatie te bestaan tussen de aktiviteit van het cytochroom en de mate van galstase (Hutterer e.a. 1970b).

Het heeft er dus de schijn van dat men thans een biochemisch substraat bezit met behulp waarvan men het mechanisme van de levercelbeschadiging door galstase veroorzaakt, kan bestuderen.

Omdat behalve galzouten, ook fosfolipiden en cholesterol bestanddelen zijn van de micellen in de gal is het niet uitgesloten dat stoomnissen in de galvorming en galstroom zich ook manifesteren in — of een gevolg zijn van — abnormale concentraties van deze beide componenten.

4.1 DE GEVOLGEN VAN GALSTASE

Chronische galstase resulteert uiteindelijk in biliaire cirrhose, welke diagnose echter volgens Sherlock (1968) gereserveerd dient te worden voor het pathologisch-anatomisch beeld. Klinisch zou men de diagnose alleen mogen stellen als er sprake is van verschijnselen die cirrhose begeleiden zoals: ascites, portale hypertensie of encephalopathie. De overgang naar biliaire cirrhose, het belangrijkste gevolg van langdurige galstase (Sherlock 1968; Popper 1968), is geleidelijk. Naar gelang de galstase langer duurt, neemt de fibrose en de mononucleaire celinfiltratie in de portagebieden toe. De cellulaire infiltratie in de portale gebieden gaat vergezeld van woekering van galgangen. De pericholangitis is dus uiteindelijk een gevolg van de galstase zelf. Aanvankelijk blijft de lobulaire structuur gehandhaafd, later neemt de bindweefselgroei toe, waardoor de lobuli kleiner worden en de normale leverarchitectuur niet meer te herkennen is. In gevorderde stadia is er geen verschil te

zien met andere vormen van cirrhose. Galstase heeft beschadiging van de hepatocyt tot gevolg, in ernstige gevallen tot nekrose van de hepatocyt leidend

Als mogelijke bestanddelen van gal, die de toxische werking op het leverweefsel uitoefenen worden genoemd bilirubine en vooral lithocholzuur. Van deze stoffen zijn respectievelijk cytotoxische en inflammatoire effecten beschreven (Hunt e.a. 1964; Cheung e.a. 1966).

Als gevolg van cirrhose kunnen miltvergroting en nierzwelling optreden. De ikterus, die bij biliaire cirrhose optreedt, neemt geleidelijk toe; in meer gevorderde stadia van cirrhose komen daarbij pruritus en xanthomatosis. De met xanthomatosis nauw geassocieerde hypercholesterinemie is een vaak voorkomende bevinding bij galstase. De oorzaak van de hypercholesterinemie is waarschijnlijk meervoudig.

Volgens Dietschy en Siperstein (1965) is de intestinale cholesterolproductie bij galstase toegenomen. Daarnaast hebben Kattermann en Cicutzfeld (1970) met behulp van dierexperimenteel onderzoek een stoornis gevonden in de regulatie van de cholesterolproductie door de lever bij galstase. Zij hebben namelijk in leverweefsel een toename gemeten van de cholesterolproductie bij galstase. Ofschoon er grote verschillen bestaan in de cholesterolhuishouding bij diverse diersoorten en bij de mens kan men toch concluderen dat de hypercholesterinemie bij galstase waarschijnlijk berust op meer dan één oorzaak.

Dietschy en Wilson (1970) hebben de remmende en stimulerende invloeden op cholesterol aammaak als volgt ingedeeld:

Stimulerende invloeden

in de lever:
weinig cholesterol
via chylomicronen
in de circulatie
(door cholesterolarme
voeding; door galzouten
deficientie)

in het ileum:
ontbreken van
galzouten in de darm

Remmende invloeden

in de lever:
veel cholesterol via de
chylomicronen in de
circulatie
(door cholesterolrijke voeding)

voedselonthouding

in het ileum:
aanwezigheid van gal-
zouten in de darm

Het ontbreken van (voldoende) galzouten in de darm geeft een gestoorde micelvorming en daardoor een verminderde vetresorptie. De gevolgen van de steatorrhoe voor het skelet zijn osteoporose en osteomalacie. Ten gevolge van de gestoorde vitamine K resorptie ontstaan bloedstollingsstoornissen.

De vraag of bij zuigelingen en jonge kinderen het verdwijnen van intrahepatische galgangen een mogelijk gevolg is van galstase, kan niet met zekerheid beantwoord worden. Cotton (1960) en Harris en Andersen (1960) beschrijven wel dat zij het verdwijnen van intrahepatische galgangen hebben waargenomen bij een aantal patienten die ook aan galstase leden. Het is echter niet na te gaan of het verdwijnen van galgangen een gevolg is van de galstase. Het is ook mogelijk dat de galstase en het verdwijnen van de galgangen een parallel verloop gehad hebben zonder direct causaal verband. Het staat wel vast dat cholestase niet altijd gevolgd behoeft te worden door verdwijnen van intrahepatische galwegen (Stark 1968, Aagaard et al. 1968, Haas 1958, Clayton et al. 1969). Men ziet daarentegen vaak juist een woekering van galgangen bij extrahepatische galgangatresie, waarbij extreme galstase aanwezig is (Hanai et al. 1967, Ohri et al. 1969).

EIGEN PATIENTEN MET INTRAHEPATISCHE GALANGAIRESE

5.1 TWEE BROERS LIJDENDE AAN INTRAHEPATISCHE GALANGAIRESE

5.1.1

Patient AA werd à terme als eerste kind van gezonde ouders geboren na een ongestoorde graviditeit met een geboortegewicht van 2720 gram. Tussen de beide ouders bestond geen consanguiniteit. Van de verdere familie anamnese is mogelijk van belang dat de grootvader van vader's zijde geleden had aan een leverziekte en aan de gevolgen daarvan was overleden. Het was niet mogelijk verdere gegevens over deze ziekte te verkrijgen. Na de geboorte was patient AA enkele dagen geel geweest; drie weken daarna trad opnieuw een progressieve ikterus op.

Patient werd op de leeftijd van zes weken elders in een ziekenhuis opgenomen. Van die opname zijn de volgende gegevens bekend: gewicht 3550 gram, hepatomegalie, ikterus; uitslagen SGOT, SGPT en thymoltroubelingstest binnen de norm, serum bilirubinegehalte 167,1 $\mu\text{mol/l}$ ($= 9,8 \text{ mg}\%$).

Op de leeftijd van twee maanden was de ikterus toegenomen; er had zich bovendien een ernstige anemie ontwikkeld. De uitslagen van de leverfuncties bleken inmiddels abnormaal te zijn. Bij laparotomie werden normale extrahepatische galwegen gevonden; de uitslag van het histologisch onderzoek van een leverbiopsie was nagenoeg totaal ontbreken van galgangen in de portadriehoekjes en sterke galstase.

Patiënt overleed op de leeftijd van vier maanden, nadat hij in toenemende mate ikterisch was geworden. Bij autopsie konden de bevindingen, die gedaan waren bij laparotomie, bevestigd worden. Het onderzoek van het leverweefsel toonde daarbij in de portadriehoekjes als regel geen en soms „rudimentaire“ galgangen. Er was een geringe toename van bindweefsel in de portadriehoekjes.

5.1.2

Patiënt BA, broer van patient AA, eveneens à terme geboren, met een gewicht van 2900 gram, vertoonde een lichte ikterus neonatorum. Hij was het vierde kind en vóór hem waren behalve AA nog twee gezonde

meisjes geboren. Op de leeftijd van $21\frac{1}{2}$ maand werd hij opnieuw geel. Om die reden werd patient op de kinderaldeling van het St. Radboud-ziekenhuis opgenomen. Bij onderzoek bleken de slijmvliezen anemisch te zijn en er was een duidelijke ikterus. De lever en milt waren matig vergroot. De voedingstoestand was normaal. Patient bleek links een viervingerplooi te hebben, verder bestond er een dubbelzijdige epicanthus en een brachycephalie met een prominierend voorhoofd. De grote fontanel liep opvallend ver door naar voren. Bij het neurologische onderzoek werd een verticale nystagmus vastgesteld.

Het laboratoriumonderzoek gaf een matige verhoging van vrij en geconjugeerd serumbilirubine, en normale tot licht gestoorde uitslagen voor de overige leverfuncties (zie tabel 6). Het aminozuurchromatogram van de urine was normaal. Bij het immunoelektroforetische onderzoek van het serum werd een normaal alpha 1-antitrypsinegehalte gevonden. De reactie op galactose in de urine was negatief. De reësorptiecoëfficiënt was duidelijk verlaagd en bedroeg 69%. (Normaal voor de leeftijd $> 90\%$.) De lues- en toxoplasmosereacties waren negatief. In verband met de mogelijkheid dat er een operabele galafvloedobstructie bestond, werd laparotomie verricht. Er werden normaal aangelegde en doorgankelijke extrahepatische galwegen aangetroffen; bij cholangiografie tijdens de operatie werd een vulling verkregen van de grote intrahepatische galwegen. Histologisch onderzoek van leverweefsel, dat door een biopsie was verkregen, liet evenals bij het oudere broertje het ontbreken van interlobulaire galgangen zien in een groot deel van de portadriehoekjes. Na de operatie bleek de ikterus geleidelijk af te nemen en vijf weken na de opname was het serumbilirubine normaal. Er bleef wel een hepatomegalie bestaan. Patient overleed plotseling ten gevolge van een intercurrente infectie op de leeftijd van 6 maanden. Ook bij deze patient werden bij autopsie de operatieve bevindingen bevestigd. Behalve aan de lever werden aan de andere organen geen afwijkingen vastgesteld, met name niet aan het hart.

5.2 OVERIGE PATIENTEN MET INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIS

5.2.1

Patient C, een jongen, werd à terme geboren als het tweede kind uit een gezin met drie kinderen. De beide andere kinderen (meisjes) waren gezond. De ouders waren eveneens gezond en er bestond geen bloedverwantschap tussen hen. De graviditeit was gestoord door een lichte fluxus. Het geboortegewicht bedroeg slechts 2000 gram. Patient werd na de eerste week progressief ikterisch. Toen patient twee maanden oud was, werd in een ziekenhuis elders een exploratieve laprotomie verricht; bij die gelegenheid werd de diagnose extrahepatische galgangatresie

gesteld. Er werd geen mikroskopisch onderzoek van het leverweefsel verricht. Patient werd op de leeftijd van ruim twee jaar op de kinderafdeling van het St. Radboudziekenhuis opgenomen. Hij bleek in lengte en gewicht een duidelijke groeiachterstand te vertonen. Er was eveneens een geestelijke retardatie. De voedingstoestand was slecht en er bestond een matig sterke ikterus. Op de huid van handen en voeten waren veel xanthelasmata plana aanwezig en over vrijwel het gehele lichaam bevonden zich talrijke krabbelekten ten gevolge van pruritus. Bij auscultatie van het hart werd een graad 2 systolische soufflé gehoord, bij nader cardiologisch onderzoek werd als waarschijnlijke diagnose gesteld een lichte vorm van pulmonaalkstenose. Er werd geen hartcatheterisatie verricht. De lever was 1 cm onder de ribbenboog palpabel en de consistentie was vast en dan normaal.

Bij het laboratoriumonderzoek (zie tabel 6) werd een matig sterke hyperbilirubinemie met voor het grootste gedeelte geconjugeerd bilirubine vastgesteld. De waarde van de alkalische fosfatase was sterk verhoogd. De overige leverfuncties waren licht gestoord. De serumwaarden voor het gehalte van cholesterol en de fosfolipiden waren verhoogd. Galactosemie werd m.b.v. urine onderzoek uitgesloten. De uitscheiding via de darm van intraveneus toegediend Bengaals rood, gemerkt met J^{131} , bedroeg 17,4%. Deze uitslag wees op een slechts partiële afsluiting van de galafvoer naar de darm, waardoor een extra hepatische galangangliese was uitgesloten, dit dus in tegenstelling tot de oorspronkelijke uitslag.

Het fosfolipidenpatroon van het plasma van patient bleek sterk afwijkend te zijn van de normale samenstelling. De totale fosfolipidenconcentratie van het plasma bedroeg 10,9 mmol/l (normaal 2,1-3,3 mmol/l). Het lecithinepercentage was 81,4% (normaal $67,7 \pm 1,9\%$), terwijl het sphingomyelinepercentage 11,8% bedroeg (normaal $19,7 \pm 2,2\%$). Bovendien was er een pathologisch sterke hemolyse van de erythrocyten, geïncubeerd in vitro bij 37°C. Er werd een correlatie tussen het afwijken van het fosfolipidenpatroon en de toegenomen hemolyse mogelijk geacht, doch een dergelijke correlatie werd niet bewezen. Deze beide laatstgenoemde bijzonderheden worden ook bij andere leverziekten waargenomen en kunnen daarom niet specifiek geacht worden voor IHGA (Boonen et al. 1969).

Bij re-exploratie van de galwegen werd een normale galblaas gezien met een wat vernauwde ductus choledochus. Het gelukte niet om de intrahepatische galwegen met contrast te vullen vanuit de galblaas. Er bleek wel contrast via de ductus choledochus in de darm te komen. Het histologische onderzoek van de lever gaf een toename van bindweefsel te zien in de portadriehoekjes, terwijl de interlobulane galgangen voor het grootste deel verdwenen bleken te zijn. In de gal-

capillaren bevonden zich veel galthrombi en in de parenchymcellen en de kupferse cellen was een galstapeling aanwezig.

Gezien de gunstige ervaringen van therapie met cholestyramine bij hypercholesterolemie, werd dit geneesmiddel toegediend aan patient C, echter zonder dat een significante verlaging van het cholesterolgehalte en een vermindering van de pruritus optrad. Een poging om de vreesoortie te verbeteren met behulp van een dieet dat vetzuren bevatte met korte ketens (medium chain) had wel succes. De vreesoortiecoëfficiënt steeg van 79 tot 98%. Op de leeftijd van 5 jaar bleken de leverfuncties stationair te blijven. De algemene toestand veranderde eveneens weinig. De lengtegroei bleef sterk achter, terwijl het gewicht conform de lengte bleef.

5.2.2

Patient D, eveneens een jongen, werd als eerste kind a terme geboren. Het geboortegewicht bedroeg 3000 gram. Tijdens de zwangerschap had de moeder een pyelonefritis doorgemaakt. Patient bleek bij een routine onderzoek, elf weken oud, licht ikterisch te zijn. Er bestonden geen klachten. De ikterus bleek van het obstructieve type te zijn. Het lichamelijke onderzoek leverde geen verdere afwijkingen op.

De hoogste bilirubinewaarde bedroeg $104,3 \mu\text{mol/l}$ ($= 6,1 \text{ mg\%}$) op de leeftijd van elf weken. Daarna daalde het bilirubinegehalte tot normale waarden. De transaminasen waren matig verhoogd, in tegenstelling tot de alkalische fosfatase welke aanvankelijk binnen de norm bleef. Het serum cholesterolgehalte was licht verhoogd. Het aminozuurchromatogram van de urine was normaal en er was geen galactose in de urine aantoonbaar. Het α -1 antitrypsine gehalte van het serum was niet verlaagd. De bilirubine-reactie in de urine was sterk positief en de facces waren vrijwel geheel ontleurd. De reacties op lues, toxoplasmosis, herpes en cytomegalie waren negatief. Het gelukte niet contrastfoto's te maken van de galblaas, noch met oraal, noch met intraveneus toegediend contrast. Na intraveneuze toediening van Bengaals rood, gekleurd met ^{131}I , werd 10% van de toegediende dosis in de 48 uur facces uitgescheiden. Deze uitscheiding wijst op een ernstige galafvoerbelemmering, doch sluit een totale stop, zoals bij extrahepatische galgang-atresie, uit.

Bij laparotomie bleek dat de uitwendige galwegen normaal van grootte waren. In de galblaas geïmpieerd contrast kwam vlot in het duodenum en in de intrahepatische galwegen. De uitslag van het histologisch onderzoek van een leverbiopsie was als volgt: onderontwikkeling van de intrahepatische galgangen met in de terminale segmenten een partieel ontbreken ervan.

Nadat op de leeftijd van een half jaar de ikterus verdwenen was,

vertoonde patiënt behalve een vrij sterke prunitus en een hepatomegalie geen afwijkingen. Gedurende de eerste twee levensjaren konden wij patiënt observeren. Hij maakte gedurende die tijd geen ikterische periodes meer door, doch bleef klachten houden van een hardnekkige prunitus. Op biochemisch gebied deed zich een opvallende verandering voor. De transaminasen daalden namelijk tot de norm terwijl de waarde van de alkalische fosfatase steeg tot pathologische waarden.

5. 2. 3

Patiënte E, een meisje, zes weken voor de uitgerkende datum geboren na een ongestoorde graviditeit met een gewicht van 2000 gram, werd ikterisch op de leeftijd van vier weken. Omdat er bovendien voedingsmoeilijkheden bestonden, werd zij elders opgenomen in een ziekenhuis.

De ikterus was progressief en de maximale waarde van het bilirubine gehalte bedroeg $116 \mu\text{mol/l}$ ($= 6,8 \text{ mg}^{\circ}_o$), waarvan 70% geconjugeerd was. Patiënte kwam slechts weinig in gewicht aan in de eerste levensmaanden. Op de leeftijd van vijf maanden bedroeg het gewicht slechts 3200 gram. Inmiddels was gebleken dat patiënte een coarctatio aortae had. De uitslagen van de reacties op cytomegalie, rubella, toxoplasmose en lues waren negatief.

De gewichtscurve begon een stijging te vertonen, nadat de normale voedingsvetten vervangen waren door zgn. „medium chain“ triglyceriden. Op de leeftijd van vier maanden werd een proctolaparotomie verricht ivm het vermoeden op een extrahepatische galgangatasie. Er bleek een kleine, gal bevattende galblaas te zijn. De ductus choledochus was doorgankelijk: dit was te zien aan de afvoer van contrast van galblaas naar duodenum. Er werd à vue een leverbiopsie verricht, waarvan de histologische bevindingen als volgt waren: het aantal interlobulaire galgangen was sterk verminderd en er waren geringe ontstekingsverschijnselen. Er werden geen reuscellen gezien en er was slechts een geringe bindweefselvermeerdering. Voor de kwantificering van de afname van het aantal interlobulaire galgangen wordt verwezen naar hoofdstuk 6 (sub 6.1).

Op de leeftijd van zes maanden werd patiënte overgeplaatst naar het St. Radboudziekenhuis. Het lichamelijk onderzoek toonde de volgende afwijkingen: er bestond nog een duidelijke ikterus. Het gewicht bedroeg 1320 gram, de lengte 59 cm (er bestond dus een duidelijke groeiachterstand). Het hart was percutoir naar beide zijden vergroot; bij auscultatie was een graad 2 — 3 systolische soufflé hoorbaar, het luide links infraclaviculair. De bloeddruk bedroeg aan de rechter arm 180 mm Hg en aan de benen 100 mm Hg. De arteriae femorales waren niet palpabel. De lever was vast van consistentie en kwam 3 tot 4 cm onder de ribbenboog uit, de milt was 2 cm palpabel.

Het serum bilirubinegehalte was matig verhoogd. De uitslagen van de overige leverfuncties behalve de thymoltest, waren alle eveneens matig gestoord (zie tabel 6). Het serum cholesterolgehalte en de serum fosfolipiden concentratie waren licht verhoogd. Uit een uitscheidingspercentage van 15,8 van de faeces bij de ¹³¹I-Bengals rood proef bleek dat er geen totale afsluiting bestond van de galvloed. Mucoviscidosis werd uitgesloten ivm een normaal nitruumgehalte van het zweet. Het aminozuurchromatogram van de urine was eveneens normaal. De reakties op lues, toxoplasmose, cytomegalie, herpes en rubella waren negatief.

Om een eventuele progressie van de histologische afwijkingen van de lever na te gaan werd een naaldbiopsie van de lever verricht op de leeftijd van 7½ maand. Dit was dus de tweede biopsie. Het pathologisch anatomisch beeld bleek vrijwel niet veranderd te zijn sinds het tijdstip van de laparotomie, toen patiente vier maanden was.

Terwijl de afwijkende leverfuncties nagenoeg stationair bleven, begon de cardiale afwijking zich steeds duidelijker te manifesteren en een toenemend ernstige decompensatie voerde tenslotte gecombineerd met een pneumonie tot het overlijden van patiente op de leeftijd van ruim acht maanden. Bij autopsie bleek er inderdaad een ernstige coarctatio aortae te zijn. De linker ventrikel was sterk hypertrofisch en verwijd. De extrahepatische galwegen waren hypoplastisch, zij waren echter wel, evenals de grote intrahepatische galwegen, doorgängelijk.

5.2.4

Patient F als eerste kind van niet-consanguine ouders a terme geboren met een geboortegewicht van 2200 gram werd ikterisch op de leeftijd van twee maanden. Om die reden werd hij opgenomen in het St. Radboudziekenhuis.

Bij lichamelijk onderzoek bleek er nog een ichterstand in gewicht en in lengtegroei te bestaan. Er bestond een lichte ikterus. De slijmvliezen waren bleek. De lever was 1½ cm palpabel onder de ribbenboog en bezat een normale consistentie. De milt was niet vergroot. Aan het hart werden geen auscultatoire en percutane afwijkingen vastgesteld. Er was een geringe algemene hypertoniciteit.

Het serum bilirubine bedroeg maximaal 60 μ mol/l (= 3,5 mg%) waarvan 85-90% geconjugeerd was. De waarde van de alkalische fosfatase was matig verhoogd, de waarden van de transaminasen waren licht verhoogd. Het serum cholesterolgehalte was normaal. Door middel van een zweetproef werd mucoviscidosis uitgesloten. Het aminozuurchromatogram van de urine was normaal. Er was geen α_1 -antitrypsine-deficientie. Het onderzoek naar rubella, toxoplasmose en lues gaf negatieve uitslagen.

De uitscheiding van J^{31} -Bengaals rood via de laetes was met een waarde van 49,3% gedurende 18 uur na toediening duidelijk algenomen. Een extrahepatische galgangatresie kon echter worden uitgesloten op grond van de waarde van deze Bengaals rood uitscheiding. Het histologische onderzoek van een naaldbiopsie van de lever toonde een sterke vermindering van het aantal interlobulaire galgangen. Verder werd er een galstase, een ongewijzigde parenchymstructuur en een toename van het aantal Kupfferse cellen gevonden.

Na de leeftijd van twee maanden verbeterde de algemene toestand geleidelijk. De ikterus verdween en de gewichtscurve toonde een stijgende lijn. Op de leeftijd van $4\frac{1}{2}$ maand bedroeg het gewicht 4700 gram. In deze periode werd echter wel een systolische soufflé in corde hoorbaar; het F.C.G. vertoonde een links-hypertrophie. De gegevens waren onvoldoende om een diagnose te stellen. De leverfuncties bleven gestoord; bovendien bleek de waarde van de alkalische fosfatase nog in geringe mate op te lopen. De algemene toestand was echter bevredigend; wel bestond er een vrij heftige priusitus.

5.2.5

Patiënte G was als vierde kind met een geboortegewicht van 2400 gram geboren uit niet-consanguine ouders. De zwangerschapsduur bedroeg 10 weken en de zwangerschap was voor zover bekend niet gestoord. Zij was na de geboorte toenemend ikterisch geworden en werd op de leeftijd van vier maanden opgenomen.

Lichamelijk onderzoek toonde een ikterisch meisje, dat geen zieke indruk maakte. De slijmvliezen waren bleker dan normaal. De voedings-toestand was goed. Het voorhoofd was bombender, terwijl het achterhoofd was afgeplat. De fontanel mat $1\frac{1}{2}$ cm bij $1\frac{1}{2}$ cm. De lever was 5 cm onder de ribbenboog palpabel en was vast van consistentie. De milt was niet palpabel. Het hart was percutoir niet vergroot. Bij auscultatie van het hart was er een holosystolische graad 2 soufflé hoorbaar, met een punctum maximum in de tweede intercostaal ruimte links. De arteriële femorales pulseerden beiderzijds normaal. De bloeddruk bedroeg 105/80.

De serum biliubine waarde die bij opname $125 \mu\text{mol/l}$ ($= 6.7 \text{ mg\%}$) bedroeg, waarvan 91% geconjugeerd, steeg tot een hoogste waarde van $241 \mu\text{mol/l}$ ($= 11.3 \text{ mg\%}$) op de leeftijd van zes maanden en daalde daarna weer op de leeftijd van 7 maanden tot nagenoeg normale waarde. De waarden van de transaminasen waren wisselend licht tot matig verhoogd. De alkalische fosfatase was aanvankelijk matig verhoogd met een tendens tot stijging. De uitslag van de thymoltoebehelings-test was normaal, evenals de waarde van totaal eiwit, eiwitfracties en cholesterol. Het natriumgehalte van het zweet was niet verhoogd. Er was geen

alpha 1 antitrypsinedeficientie. Het aminozuurchromatogram liet geen verhoogde uitscheiding zien van tyrosine. Bij een herhaald onderzoek was deze afwijking minder sterk uitgesproken. Een bepaalde konklusie konden wij uit deze laatste bevinding niet trekken. De reakties op rubella, cytomegalie, lues, toxoplasmose en Australie antigeen waren negatief.

De uitscheiding van radioactief gemerkt Bengaals rood via de faeces bedroeg 12%, wijzend op een incomplete galafvoer afsluiting.

Een laparotomie, uitgevoerd toen patiënte ruim 5 maanden oud was, liet een hypoplastische galblaas zien, gevuld met licht-bruin gekleurde gal. Een peroperatief cholangiogram toonde een goede afvoer van contrast naar de darm en dunne, graciele intrahepatische galwegen. Er was geen choledochus cyste. De histologische diagnose luidde sterke vermindering van het aantal interlobulaire galgangen. Er was een matige fibrose, een sterke galstase en een toename van het aantal Kupfferse cellen. De parenchymstructuur was ongewijzigd. In de maanden die volgden op de laparotomie bleef de algemene toestand goed. De cardiale afwijkingen bleven bestaan, een precieze diagnose kon zonder hartcatheterisatie niet gesteld worden. Een dergelijke ingreep was niet geadviseerd. Op de leeftijd van 7 maanden was patiënte niet ikterisch, de leverfuncties bleven echter gestoord vooral wat betref de alkalische fosfatase.

5 2 6

Patiënte H werd na een zwangerschap van 40 weken geboren. De ouders waren niet verwant. Tijdens de eerste drie maanden was de zwangerschap gecompliceerd door vaginaal bloedverlies. Het geboortegewicht van patiënte bedroeg 3120 gram, de lichaamslengte 48½ cm. Zij was op de leeftijd van twee maanden ikterisch geworden.

Bij opname op de kinderafdeling van het academisch ziekenhuis te Leuven (Hoofd Prof Dr L. Iggersmont) werd een duidelijke ikterus vastgesteld. De overige belangrijkste bevindingen bij het lichamelijke onderzoek waren behalve een hepatomegalie klopvoeten, dubbelzijdige epicanthus en een dubbelzijdige viervingerplaat. Bovendien was er een derde fontanel, een zeer wijde sutura metopica en er bestond een psychomotorische retardatie. Aan het hart werden geen afwijkingen vastgesteld. Gezien deze verschijnselen werd gedacht aan het cerebro-hepato-renale syndroom (Zellweger syndroom). Dit syndroom wordt o.a. gekenmerkt door hypotonie, retardatie, cataract en een abnormale schedelvorm. De pathologisch anatomische bevindingen zijn cerebrium en cerebellum afwijkingen (pachygyrie, cerebellum atrofie), van de lever verstooring van de lobulaire bouw, atresie van de interlobulaire galgangen en cystenieren (Opitz e.a. 1969).

Het laboratoriumonderzoek gaf matig verhoogde waarden voor serum bilirubinegehalte en transaminasen en een sterk verhoogde waarde voor de alkalische fosfatase. De uitslag van de thymoltoebelings-test was normaal. Het aminozuurchromatogram van de urine was normaal.

Histologisch onderzoek van een naaldbiopsie van de lever gaf als belangrijkste gegevens galstase en vermindering van het aantal interlobulane galgangen.

Op de leeftijd van vijf maanden vertoonde patiënt geen ikterus meer. Zij kwam echter niet in gewicht aan en de psychomotorische retardatie werd duidelijker. Zij overleed op de leeftijd van 9 maanden ten gevolge van een bronchopneumonie.

Bij autopsie bleek dit de diagnose cerebrohepato-renal syndroom niet bevestigd kon worden aangezien bij onderzoek van de nieren geen afwijkingen gevonden konden worden. Voor verdere bijzonderheden betreffende de leverhistologie wordt verwezen naar hoofdstuk 6.

5.3 PATIËNT MET INTRA-EXTRAHEPATISCHE GALGANGATRIJSIE

Patiënt 1, een jongen, werd na een ongestoorde graviditeit a terme geboren met een gewicht van 2600 gram. De ouders waren gezond en er bestond geen bloedverwantschap. In verband met een geringe cyanose en verdenking op een vitium cordis werd patiënt direct na de geboorte opgenomen. Hij werd op de tweede levensdag ikterisch. Het serum bilirubinegehalte steeg tijdens de eerste levensweek tot maximaal $165 \mu\text{mol/l}$ ($= 27,2 \text{ mg\%}$) waarvan 70% geconjugeerd was.

Bij onderzoek werd behalve een lichte cyanose en een ikterus, een sterke vergroting van het hart en een graad I systolische soufflé gevonden. De lever was 1 cm palpabel, de milt was niet palpabel. Bij hart catheterisatie werd een ernstige valvulaire pulmonalistenose vastgesteld met hypoplastische longslagaders.

De waarden van de serum transaminasen bleken matig verhoogd te zijn; de alkalische fosfatase was sterk verhoogd. Het serum cholesterolgehalte was matig verhoogd. Een poging door middel van duodenaalsondage gal te verkrijgen leverde bij herhaling een negatief resultaat op. De uitscheiding van intraveneus toegediend ^{131}I — gemerkt Bengaals rood via de faeces bedroeg slechts 1,3% volgens Sharp e.a. (1967) wijst deze geringe uitscheiding op een totale afsluiting van de galafvoer.

Bij laparotomie op de leeftijd van zes weken werd een atresie van de ductus hepaticus vastgesteld. Een per operatief cholangiogram waar bij contriëst direct in de galblaas gespoten werd, toonde aan dat er wel een verbinding bestond tussen galblaas en duodenum. Bij het microscopische onderzoek van het leverweefsel bleken de interlobulane galgangen grotendeels te ontbreken. Het postoperatieve verloop werd ge-

kenmerkt door een achteruitgang van de toestand. Patient maakte verschillende infecties door: een pneumonie, een osteomyelitis en een meningitis. Hij overleed tenslotte op de leeftijd van ruim een jaar ten gevolge van een decompensatio cordis. Bij autopsie werd vastgesteld dat er behalve een ernstige stenose van de arteria pulmonalis ook een ventrikel septum defekt bestond. Behalve de ductus choledochus waren alle extrahepatische galgangen atretisch en de lever voelde zeer vast aan. Microscopisch onderzoek van de lever toonde een sterk toegenomen fibrosering.

5.1 SAMENVATTING VAN DE BEVINDINGEN BIJ EIGEN PATIENTEN

Een stoornis in de zwangerschap deed zich voor in het geval van de patienten C en H in de zin van een fluxus, terwijl bij de moeder van patient D een pyelonefritis was opgetreden tijdens de zwangerschap. De overige patienten werden geboren na ongestoorde zwangerschappen. Uit de geboortegewichten van verschillende patienten blijkt echter dat er toch storende factoren geweest zijn tijdens de intra-uteriene ontwikkeling. De patienten AA, C, F, G en I waren namelijk dysmatuur bij de geboorte. Het gewicht van patiente F viel met 2000 gram bij een zwangerschapsduur van 34 weken binnen de norm, evenals de gewichten van de patienten BA, D en H. Er wordt op gewezen dat deze drie laatstgenoemde patienten geen aangeboren hartafwijking hadden. Op de combinatie IHGA met aangeboren hartafwijking zal nog worden ingegaan in hoofdstuk 10.

Het tijdstip van optreden van de ikterus varieerde bij onze patienten van de tweede levensdag tot 11 weken. Bij het ontdekken van de geelzucht speelde waarschijnlijk het toeval ook een rol. De belangrijkste klinische bevinding bij onze patienten was een hepato-spleno-megalie. Op zeer jonge leeftijd bleken de patienten F en I nog geen hepato-spleno-megalie te vertonen. Wat de verdere symptomen betreft: xanthomatosis werd alleen gezien bij patient C; pruritus kwam bij elke patient voor die wij enkele maanden konden vervolgen.

Bij IHGA, waarbij een obstructie-ikterus bestaat, is een verhoging te verwachten zowel van de vrije als van de geconjugeerde bilirubinefractie. Het blijkt uit de literatuur, dat bij IHGA in een aantal gevallen een wisselend bilirubinegehalte is waar te nemen, waarbij de serum bilirubine concentratie na een hoge waarde bereikt te hebben soms weer daalde tot de norm (zie tabel 2).

Van de eigen patienten was een dergelijk variërend verloop te zien bij BA, C, D, F, F, G en H. Bij de patienten AA en I trad geen daling van het bilirubinegehalte op. De progressieve stijging van het bilirubine-

Label 6 Belangrijkste laboratoriumbevindingen bij eigen patienten met IHGA.

Patienten	AA	BA	C	D	E	F	G	H	I	normaal (+)
Bilirubine*) $\mu\text{mol/l}$	1074	120	164	104	116	60	244	119,7	465	tot 8,5
Hoogste waarde	(53%)	(84%)	(70%)	(75%)	(68%)	(72%)	(46,7%)	(—)	(70%)	
Laagste waarde	—	20,5	80	25,6	75,5	5,5	41,0	—	—	—
daarna volgende			(68%)		(81%)	(82%)	(93,8%)			
SGOT U/l**) (25°C)	105	35	125	64	210	50	80	74	205	5 - 15
SGPT U/l**) (25°C)	61	6,5	60	36	17	26	120	61	88	2 - 12
Alkalische fosfatase**) U/l	—	353	1207	884	434	620	835	>1500	1666	150 - 320
Thymol**) I troebelings	0,2	0,6	2,8	0,2	0,3	0,1	2,8	1	1,7	tot 2,5
Cholesterol**) mmol/l	—	4,0	16,0	6,3	7,8	4,1	5,8	—	9,8	1,7 - 4,2
Fosfolipiden uitgedrukt als lipide	—	—	10,9	—	5,68	3,9	—	—	—	1,6 - 3,8
fosfor mmol/l										
Jan-Bengaals rood uitschiding via laecies	—	—	17,4	10	15,8	49,3	12	—	4,3	75 - 97
% van toegediende dosis										
Cholzuur mmol/l	—	—	0,07	0,05	0,4	0,03	—	—	—	0 - 0,002
Chenodesoxycholzuur mmol/l	—	—	0,02	0,03	0,12	0,05	—	—	—	0 - 0,002

*) Tussen haakjes percentage geconjugeerd bilirubine

**) Hoogste bekende waarden

—) Niet bekend/niet bepaald

+) Normale waarden werden uit de literatuur verzameld (voor zover mogelijk bij gelijke leeftijdsgroepen)

gehalte bij patient AA was in overeenstemming met het klinische verloop, dat een progressieve cholestase inhield. Een dergelijk verloop was moeilijk te verklaren. Als mogelijkheid zou kunnen worden overwogen dat de exploratie van de galwegen een verslechtering van de galafvoer veroorzaakt heeft. Bij I is de progressie van de ikterus te verklaren vanwege het gelijktijdig aanwezig zijn van atresie van de extrahepatische galwegen. Ook het feit dat bij de Bengaals rood proef slechts een uitschending van 4,3% via de darm (via de galwegen) gevonden werd, wees op een totale afsluiting.

De serumtransaminasewaarden waren licht tot matig verhoogd. De waarden van de alkalische fosfatase liepen vrij sterk uiteen. Bij de patienten C, D, G, H en I was de waarde van de alkalische fosfatase sterk verhoogd, dit in tegenstelling tot de bevindingen bij de patienten BA, E en F, bij wie licht tot matig verhoogde waarden gevonden werden.

Wat betreft de overige biochemische bevindingen, is gezien de literatuurgegevens het al dan niet voorkomen van een hyperlipemie van belang. Uit tabel 6 blijkt dat zowel het cholesterolgehalte als de concentratie van de plasmafosfolipiden is toegenomen bij patienten C en E. Ten slotte is ons gebleken dat voorzover bepaald, de galzouten concentratie in het serum verhoogd was bij onze patienten.

Een verhoging van de galzouten concentratie in het bloed ziet men vaak gelijk optreden met pruritus. Behalve de serum galzouten concentratie spelen echter nog meerdere factoren een rol bij het ontstaan van pruritus (Sherlock 1968; Schoenfield 1969).

Samenvattend vinden wij constant een verhoogd bilirubinegehalte en meestal een lichte tot matige verhoging van de serumtransaminasen en een matige tot sterke verhoging van de alkalische fosfatase. Ook het serum cholesterolgehalte is bij vijf van de zeven patienten bij wie het bepaald is, verhoogd. Wanneer de intrahepatische atresie niet gecombineerd is met een extrahepatische atresie, is de uitslag van de Bengaals rood proef weliswaar gestoord, doch nog niet zo ernstig als bij een volledige afsluiting van de galafvoer.

RESULTATEN VAN MORPHOLOGISCH ONDERZOEK VAN DE LEVER BIJ EIGEN PATIËNTEN

6.1 LICHTMICROSCOPISCH ONDERZOEK

6.1.1 Biopsie

Zoals werd vastgesteld in hoofdstuk 2 is het enige obligate pathologisch-anatomische kenmerk van IHGA het ontbreken van interlobulaire galgangen in een belangrijk aantal van de portadriehoekjes, of zelfs in alle. De pathologisch-anatomische bevindingen bij de patiënten die wij zelf konden observeren, zijn daarmee in overeenstemming. Gezien de nog resterende galafvoer die gevonden werd bij de patiënten met IHGA, was reeds op grond van klinische gegevens een volledige atresie van de intrahepatische galwegen bij hen uitgesloten. Bij de bestudering van de histologische afwijkingen hebben wij getracht een kwantificering te verkrijgen van de nog resterende galgangen; daarnaast hebben wij de overige histologische kenmerken in tabelvorm weergegeven.

In tabel 7 zijn de pathologisch-anatomische gegevens van onze eigen patiënten op dezelfde manier verzameld als in tabel 3, die een overzicht geeft van de pathologisch-anatomische bevindingen bij de gevallen van IHGA die uit de literatuur verzameld zijn. De tabel is uitgebreid met de volgende rubrieken: zwelling en toename in aantal van Kupffers cellen, ijzerstapeling en bijzonderheden.

Bij het vervaardigen van tabel 7 is gebruik gemaakt van de gegevens, verkregen bij het onderzoek van biopsiemateriaal.

Zoals uit tabel 7 blijkt, zijn de constante bevindingen: een belangrijke vermindering in aantal van de interlobulaire galgangen, galstase en het ontbreken van nekrose. De overige bevindingen zijn niet constant.

Vermindering van het aantal interlobulaire galgangen. (zie fig. 10 en 11).

Het eerste kenmerk, de vermindering van het aantal interlobulaire galgangen werd als voorwaarde gesteld voor de diagnose. In geen enkel biopsi ontbreken de galgangen geheel. De percentages van de portadriehoekjes, waarin de galgangen afwezig zijn, variëren van 42% tot 96%. (Deze percentages bezitten geen statistische relevantie, doch zijn in de tabel vermeld om een onderlinge vergelijking te vergemakkelijken). In materiaal, verkregen bij biopsie op latere datum en bij autopsie is bij

Label 7 Histologisch onderzoek van leverbiopten van eigen patienten.

Patient	Ontbreken van interlobulaire galgangen*)	Galtase	Ontstekingsinfiltraat	Fibrose	Nekrose	Architectuur veranderingen	Zwelling en/of toename kupfferse cellen	IJzerstapeling	Bijzonderheden
AA	23/24 (96%)	+	(+)	±	—	—	±	—	opvallende wijde bloedvaten en sinussen
BA	18/20 (90%)	+	(+)	—	—	parenchymcellen vaak in opvallende rozetten gearangschikt	+	+	geen
C	9/11 (82%)	+	+	+	—	aanduiding van pseudo lobulusvorming	(+)	—	geen
D	33/36 (92%)	+	—	±	—	parenchymcellen hier en daar in rozetten gearangschikt	(+)	—	geen
F	12/15 (80%)	+	(+)	—	—	—	—	—	in een latere biopsie veel pseudogalgangen
F	1/6 (67%)	+	—	—	—	—	+	—	geen
G	10/23 (42%)	+	(+)	(+)	—	—	+	—	proliferatie van pseudogalgangen
H	2/3 (66%)	+	—	—	—	—	—	+	zwelling parenchymcellen
I	14/18 (78%)	+	—	—	—	—	+	—	veel dubbelkernige parenchymcellen

*) Breuk geeft aan in hoeveel van de onderzochte driehoekjes de interlobulaire galgangen ontbreken.

+: positief. (+): matig. ±: gering. —: afwezig.

patiënte E een woekering van pseudogalangen opgetreden waardoor een juiste beoordeling van het aantal echte intrahepatische galangen moeilijk en derhalve onbetrouwbaar wordt (zie ook 6.3). Bovendien zijn door een ver voortgeschreden fibrose de portadiehoekjes niet af te grenzen.

Ook bij patiënte G is een kwantificering van de atresie bemoeilijkt door proliferatie van pseudogalangen. De telling leverde bij patiënte G namelijk op: 10 diehoekjes zonder galang, 10 met prolifererende galangen en 3 met een normale galang. Wanneer we de 10 diehoekjes met proliferatie af zouden trekken van het totale aantal van 23, met als argument de onbeoordeelbaarheid, zou de mate van atresie als volgt luiden: 10/13 ofwel 77%.

Galstase

Galpigment komt voor in de parenchymcellen en bovendien zijn er verspreide galthrombi in de galcapillairen. Bij alle eigen patiënten zijn er ten tijde van de biopsie ook klinische en biochemische verschijnselen van galstase. Het feit dat histologisch onderzoek bij alle patiënten een galstase te zien geeft, is dus in overeenstemming met de kliniek. Het is ons echter wel gebleken dat de morphologische verschijnselen van galstase nog aanwezig kunnen zijn, terwijl bij klinisch en biochemisch onderzoek vrijwel geen tekenen meer bestaan van galstase. Wij hebben dit waargenomen bij de patiënten BA en D.

Nekrose

Het niet voorkomen van nekrose van levercellen wordt apart vermeld, omdat een dergelijke nekrose o.a. gezien kan worden bij infectieuze beschadiging van de lever, waaraan in sommige gevallen van IHGA een etiologische rol toegelicht kan worden.

Ontsteking

In de literatuur zijn bij een aantal patiënten met IHGA ontstekingsverschijnselen in de lever beschreven en ook bij vijf van de negen patiënten die wij zelf konden observeren blijken ontstekingsverschijnselen in het biopsiemateriaal van de lever voor te komen. De verschijnselen variëren van het voorkomen van sporadische mononucleairen in de portale gebieden tot een, weliswaar lichte, infiltratie met plasmacellen, granulocytën en een toename van fibroblasten. De veranderingen die door de ontsteking waren opgetreden, waren echter bij geen van de patiënten van een dusdanige aard dat het verdwijnen van intrahepatische galangen erdoor verklaard kon worden, destructie van de galangen door infiltraat is niet gezien.

Bij een aantal patienten zijn er tekenen van een beginnende fibrose-
ring. Deze is bij patient C het duidelijkst en begint bij deze over te gaan
in cirrhose onder andere gepaard gaande met pseudolobulus vorming.
Het feit dat de galstase bij deze patiënt het langst aanwezig was op het
moment van het nemen van de biopsie speelt hierbij een belangrijke rol.
Indien de galstase voldoende ernstig en langdurig is, is te verwachten
dat zich een biliaire cirrhose ontwikkelt (zie hoofdstuk 1). Daar echter
bij onze eigen patienten D en F geen nekrose van levercellen en geen
ontstekingsverschijnselen waarneembaar zijn, is het nog niet met zeker-
heid te voorspellen of zich inderdaad een cirrhose bij hen zal ontwikke-
len.

Zwelling en vermeerdering in aantal van Kupfferse cellen

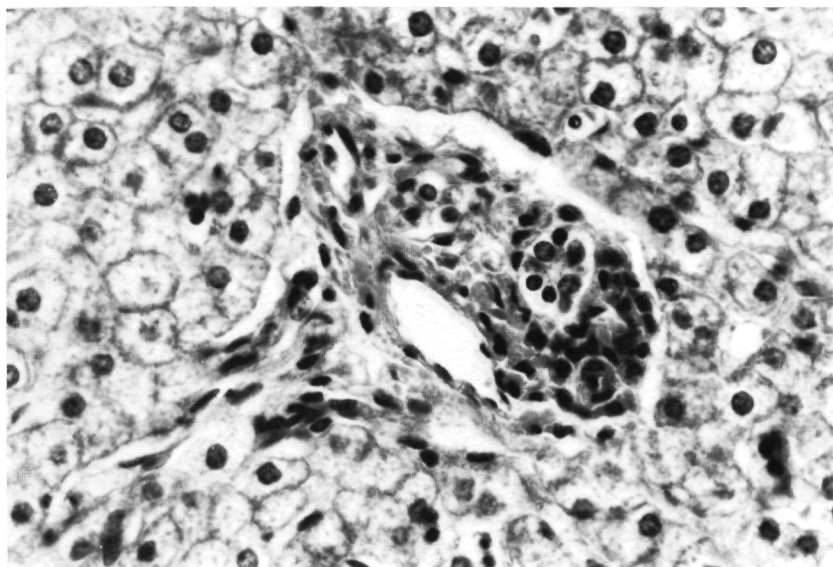
Met uitzondering van de patienten E en H zien wij bij alle patienten
in de leverbiopsien een toename en swelling van de Kupfferse cellen.
Deze reactie van de Kupfferse cellen komt zeer vaak voor bij andere
leveraandoeningen en levert geen nieuwe gezichtspunten op bij de be-
studering van IHGA.

Ijzerstapeling

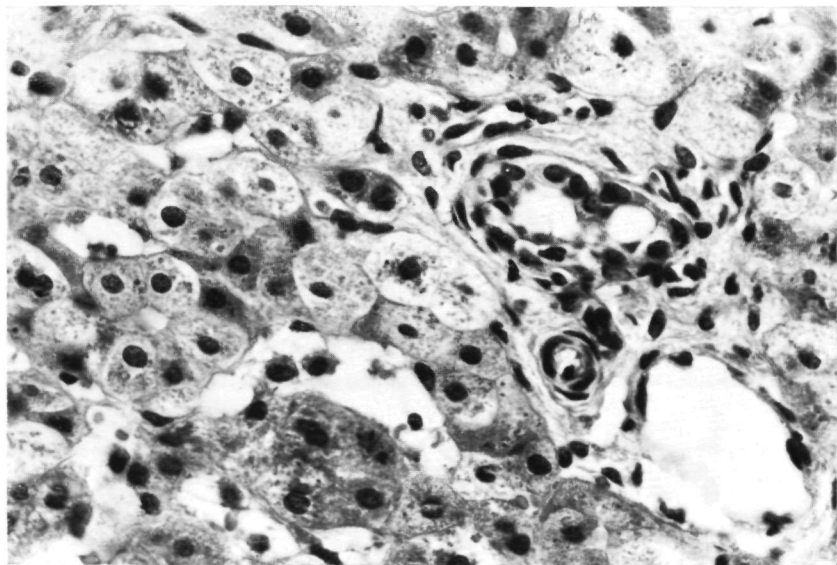
Bij slechts twee patienten (BA en H) wordt ijzerstapeling gevonden
in de lever, en wel in de levercellen en in de Kupfferse cellen. De bete-
kenis daarvan bij IHGA is niet bekend. Het feit dat bij de andere patien-
ten, en met name bij patient AA, de broer van patient BA, geen ijzer-
stapeling is waargenomen, doet ons concluderen dat de genoemde ijzer-
stapeling geen essentieel kenmerk is van de ziekte, doch een bijkomstig
fenomeen. Hierbij dient echter wel opgemerkt te worden dat juist bij de
patienten BA en H een uitscheiding gezien is van een abnormaal gal-
zuur (zie hoofdstuk 9).

Rozet-vangschikking van parenchymcellen (zie figuur 12)

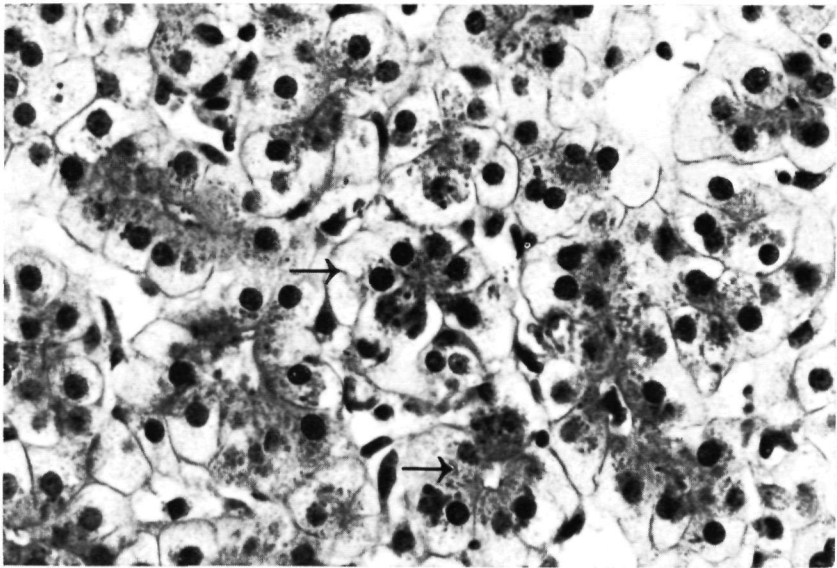
Deze bevinding werd gedaan in leverbiopsien van patiënt BA en pa-
tiënt D. Deze rozetten van parenchymcellen bevatten in het centrum
een galthrombus. Over de oorzaak en de betekenis van deze rozetvor-
ming zijn ons bij de bestudering van de literatuur over IHGA geen gege-
vens bekend geworden. Aangezien de patienten BA en D, wat betreft
de overige bevindingen, die bij hen gedaan zijn, zich niet als een bepaal-
de groep laten onderscheiden van de andere patienten, kunnen wij op
grond van onze eigen bevindingen eveneens geen bepaalde betekenis aan-
geven van het verschijnsel van de rozetvorming. Bovendien wordt rozet-
vorming vaker gezien bij galstase.



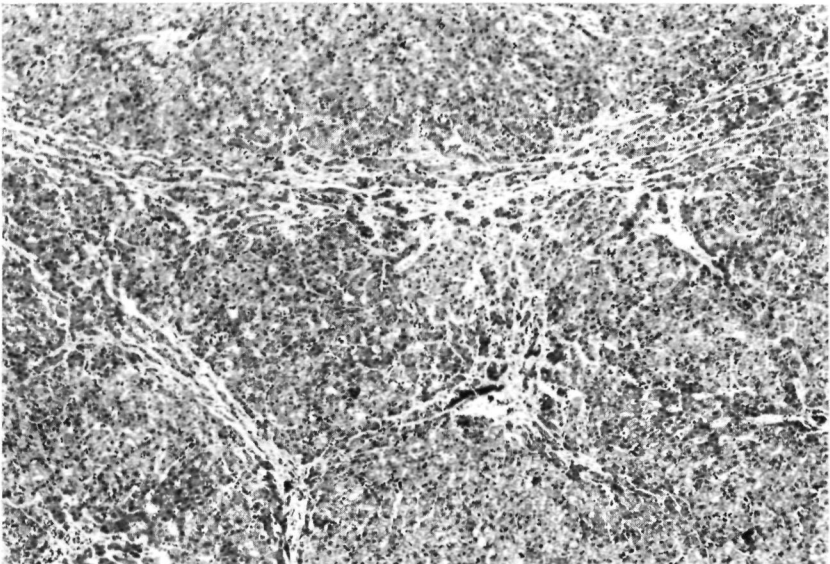
Figuur 10. Normaal gebouwd driehoekje van Kiernan met twee interlobulaire galgangen. Levermateriaal autopsie van 10-maanden oud kind. H.E.; $\pm 410 \times$.



Figuur 11. Driehoekje van Kiernan waarin galgang ontbreekt. Leverbiopsie van patiënt I. H.E.; $\pm 410 \times$.



Figuur 12. Rozet-rangschikking van parenchymcellen (zie pijlen).
Leverbiopsie van patiënt BA. H.E.; $\pm 410 \times$.



Figuur 13. Perisinusoidale fibrose, waarin de driehoekjes van Kiernan zijn opgenomen. Autopsie patiënt I. H.E.; $\pm 50 \times$.

Resumerend blijkt dus bij alle patienten een belangrijke vermindering van het aantal interlobulaire gangen voor te komen en bovendien galstase in de galcapillaren en diffuus verspreid in de parenchymcellen. De overige histologische afwijkingen zijn niet constant aanwezig. De resultaten van het morphologische onderzoek laten geen conclusies toe over de etiologie en de pathogenese van IHG A

6.1.2 Autopsie

Wij hadden autopsiemateriaal ter beschikking van de patienten AA, BA, E, H en I. De pathologisch-anatomische bevindingen die wij uit dat materiaal verkregen hebben zijn bijeengebracht in tabel 8.

Bij vergelijking van de gegevens verkregen bij de biopsie en bij de autopsie vallen enkele verschillen op. Behalve een verder voortschrijdende fibrosering en verandering van de parenchymbouw is er in de meeste gevallen een verandering opgetreden in het aspect van de porta-driehoekjes. Bij de patienten AA en BA blijkt er in het autopsiemateriaal een vergroting te zijn opgetreden van de driehoekjes (toename van bindweefsel), doch de percentages driehoekjes zonder galgang zijn gelijk gebleven. Bij patienten E en I is de ernst van de atresie niet meer te beoordelen in het autopsiepreparaat.

In het preparaat van patient I is door woekering van pseudogalgangen een betrouwbare beoordeling niet meer mogelijk, terwijl bij patient I de architectuur van het leverparenchym in sterke mate is veranderd waardoor een herkennen van de portadriehoekjes onmogelijk is geworden (zie figuur 13). Van de overige rubrieken van tabel 8 vertoont de rubriek ontsteking slechts graduele verschillen met de overeenkomstige rubriek van tabel 7. Autolyse blijkt ook in de autopsiepreparaten niet aanwezig te zijn. De mate van galstase is bij patient AA toegenomen, bij de overige 4 patienten onveranderd. IJzerstapeling komt evenals in het biopsiemateriaal, alleen voor in het preparaat van patient BA en van patient H.

6.1.3 Atresie van galgangen op verschillende niveaus in de lever

Omdat het ontbreken van de interlobulaire galgangen niet totaal is, zou de benaming hypoplasie juist zijn dan atresie. Onder hypoplasie wordt dan verstaan een gering aantal galgangen. Om eenheid in de terminologie te bewaren, ook op grond van de gewoonte in de literatuur, is de benaming atresie gebruikt. Om uit te maken of de atresie van de intrahepatische galgangen slechts in hoofdzaak de terminale ductuli betreft, dan wel het gehele intrahepatische galgangstelsel werd bij de patienten BA, F en G op verschillende niveaus in de lever nagegaan hoe de mate van de atresie van de galgangen was. De keuze van de

Tabel 8 Pathologisch anatomische gegevens van leveronderzoek bij overleden patiënten

Patient	Ontbreken van interlobulaire galgangen	Galstase	Ontstekings in filtraat	Fibrose	Nekrose	Architectuurver anderingen	Zwelling en/of toename Kupffercellen	IJzer- stapeling	Bijzonderheden
AA	97/100 (97%)	+	+	±	—	—	(+)	—	portaductiehoekjes vergroot
BA	96/100 (96%)	+	+	+	—	(+)	—	+	portaductiehoekjes vergroot
E	—*)	+	(+)	+	—	+	—	—	veel pseudogalgangen
H	72/88 (82%)	+	—	—	—	—	—	+	geen
I	—**)	+	—	+	—	+++	—	—	sterke perisinusoidale „fibrose“; extra medullaire hematopoïese

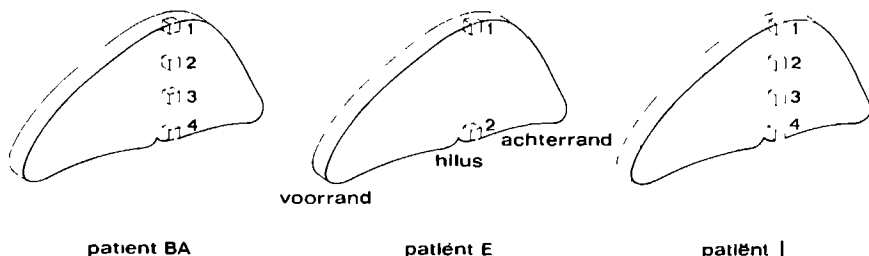
*) Telling niet mogelijk door pseudogalgangvorming

***) Telling niet mogelijk doordat ductiehoekjes niet af te grenzen zijn

Voor verklaring van de overige tekens zie tabel 7.

niveau's bij de drie onderzochte patienten is schematisch aangegeven in fig. 14.

Hierboven is reeds meegedeeld dat telling van interlobulaire galgangen in het autopsy preparaat van de lever van twee patienten ons niet mogelijk is geweest. Alleen bij patient BA was een telling en een beoordeling van portadriehoekjes mogelijk. Bij F en I zal men wel kunnen nagaan of, in de richting van de hilus gaande, grotere takken van de ductus hepaticus aanwezig zijn. Bij patient BA daarentegen zal men zowel aantallen galgangen als het kaliber ervan kunnen vergelijken



Figuur 14 Aanduiding van de verschillende niveau's in de lever van waar materiaal genomen is voor vergelijking van de mate van ontbreken van interlobulaire galgangen. Sagittale doorsnede door de lever

Vergelijking van verschillende niveau's van de lever, wat betreft intra-hepatische galgangen

Patient BA

Het blijkt dat zowel perifeer in de lever (subcapsulaire) (1), op een derde afstand kapsel-hilus (2), op twee-derde van die afstand (3), als in het hilusgebied (4), een gelijk aantal interlobulaire gangen aanwezig is. Er blijkt dus geen verandering op te treden in de mate van atresie van de galgangen indien men door de lever van perifeer naar centraal gaat. Een voorkeur voor de atresie van de kleinste galgangen (interlobulaire) is niet aan te tonen. Het enige verschil dat gezien wordt tussen periferie en hilus, is het voorkomen van grote takken van de ductus hepaticus in het gebied bij de hilus, zoals te verwachten is

Patient E

Bij vergelijking van het subcapsulaire leverweefsel en het weefsel uit de hilusstreek blijkt dat ook in dit geval het enige verschil tussen centraal en perifeer is, dat centraal grote takken van de ductus hepatici gevonden worden. Het aspect van de interlobulaire galgangen, waarvan het overgrote deel uit pseudogalgangen bestaat, is perifeer en cen-

taal identiek. Kwantificering van de mate van atresie is daardoor, zoals boven reeds vermeld, ons niet mogelijk gebleken.

Patient I

Aangezien bij deze patiënt in het autopsiepreparaat van de lever de normale leverparenchymstructuur vrijwel niet meer te herkennen is, is een vergelijking van de mate van atresie perifeer en centraal niet goed mogelijk. Wanneer echter gelet wordt op de aan- of afwezigheid van galgangen dan blijkt dat ook bij deze patiënt weer het enige verschil tussen centrale en meer perifeer gelegen gedeelten uit de lever, het voorkomen is van grote galgangen in het hilusgedeelte van de lever.

Resumerend blijkt dus dat er bij onderzoek van perifere en centrale delen van de lever van de drie genoemde patienten, geen andere verschillen bestaan dan de aanwezigheid van grote en zeer grote takken van de ductus hepaticus, die dus blijkbaar aan het proces van atresie niet deelnemen. Gherardi en Mac Mahon (1970) daarentegen zijn er wel in geslaagd vast te stellen dat er een geleidelijke toename van de ernst van atresie in de richting van de periferie was bij twee door hen beschreven patiënten. Zij hebben een verschil vastgesteld tussen de grote, centrale galgangen, en de middelgrote galgangen en de kleinste interlobulaire galgangen. Het is hun namelijk gebleken dat de atresie van de kleinste galgangen het meest uitgesproken is en in de richting van de hilus afneemt, naarmate grotere takken van de ductus hepaticus beschouwd worden. Zij noemen het ziektebeeld overeenkomstig deze bevinding: „hypoplasia of terminal bile ducts”. Zij vermelden echter hun methode van onderzoek niet. Op grond van de gegevens die onze onderzoeken hebben opgeleverd, kunnen wij voor ons materiaal een dergelijke differentiatie niet aangeven.

Tenslotte wordt de aandacht speciaal gevestigd op het feit dat bij patiënt I niet een totale atresie van het gehele galwegenstelsel bestaat, ofschoon de diagnose intra- en extrahepatische galgangatresie bij deze patiënt is gesteld. Blijkens de microscopische bevindingen, zijn immers de grootste intrahepatische takken van de ductus hepaticus niet atretisch, in tegenstelling tot de extrahepatische galwegen en de kleinste, interlobulaire galgangen. Wij zijn echter op grond van het microscopisch onderzoek niet in staat aan te geven op welk niveau de overgang naar atresie zich bevindt.

6.2 ELECTRONENMICROSCOPISCH ONDERZOEK

6.2.1 Materiaal en methoden

Voor electronenmicroscopisch onderzoek werd het leverweefsel, verkregen d.m.v. biopsie, 2 uur lang in een 2% osmiumoplossing, met

Tabel 9*) Electronenmicroscopische bevindingen bij leverbiopsie-onderzoek van patienten met intrahepatische galganganesie

Patient	BA	C	D	E	F	
<u>Hepatocyten</u>						
Mitochondrien	talrijk, iets onregelmatige vorm	g b.	g.b	rond, wat gezwollen, weinig cristae	g.b.	
Endoplasmatisch reticulum: glad	weinig aanwezig	onregelmatig, mogelijk toegenomen	g.b	vesiculair aspect	sterk vesiculair aspect	
idem : ruw	g.b.	onregelmatig verwijdt	lokaal opgehoopt, lamellair aspect	g b.	g.b.	
Golgi-apparaat	g.b	g b.	g.b.	g b	g b.	
„Pericanaliculair dense bodies”	g b.	g b	g b.	g b.	wisselend aantal	
„Microbodies”	zeer gering aantal	talrijk	vrij talrijk	vrij talrijk	zeer gering aantal	
Glycogeen	wisselende hoeveelheden	g b.	veel aanwezig	veel aanwezig gelijkmatig verspreid	g.b.	
Insluitsels	galbestanddelen	intracytoplasmatisch pericanaliculair	afwezig	niet duidelijk aantoonbaar	afwezig	wisselend aanwezig, pericanaliculair
	lipofuscine	veel aanwezig	g b.	wisselend aanwezig	g.b.	soms veel aanwezig
	vetvacuolen	geen	sporadisch	geen	talrijk	wisselend talrijk

Vervolg tabel 9

Patient	BA	C	D	E	I
Cellgrenzen	veel microvilli	plaatselijk microvilli	veel microvilli	plaatselijk microvilli	geen microvilli
Pericanalicular ectoplasma	g b	g b	soms verbreed	g b	g b
Kernen	soms 2 per cel	g b	soms 2 per cel	g b	g b
<u>Galcanaliculi</u>					
Vorm en grootte	sterk verwijd en onregelmatig divertikelvorming	meestal verwijd	sterk verwijd divertikelvorming	wisselend verwijd	meestal verwijd
Aantal microvilli	afgenomen	afgenomen	afgenomen tot geheel afwezig	afgenomen	afgenomen
Inhoud	vlokkig en osmofiel	vlokkig en osmofiel	vlokkig en osmofiel	vlokkig en osmofiel	lijnvlokkig en osmofiel

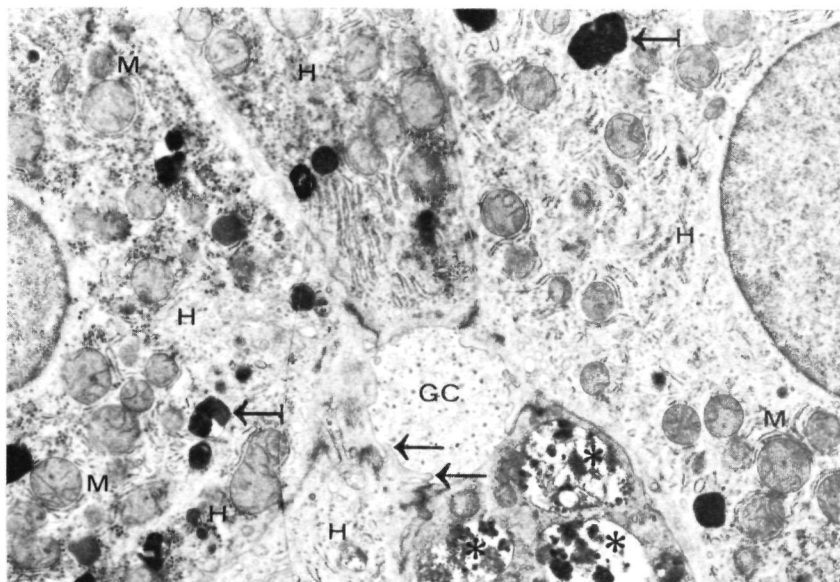
*) g b = geen bijzonderheden

veronacetaat gebuffd, bij 1°C gefixeerd gedehydreerd in een toenemende alcoholeek en vervolgens in Lpon 812 gebed. De ultradunne coupes werden nagecontrasteerd met uranylacetaat en loodcitraat en in een Philips LM 200 bestudeerd.

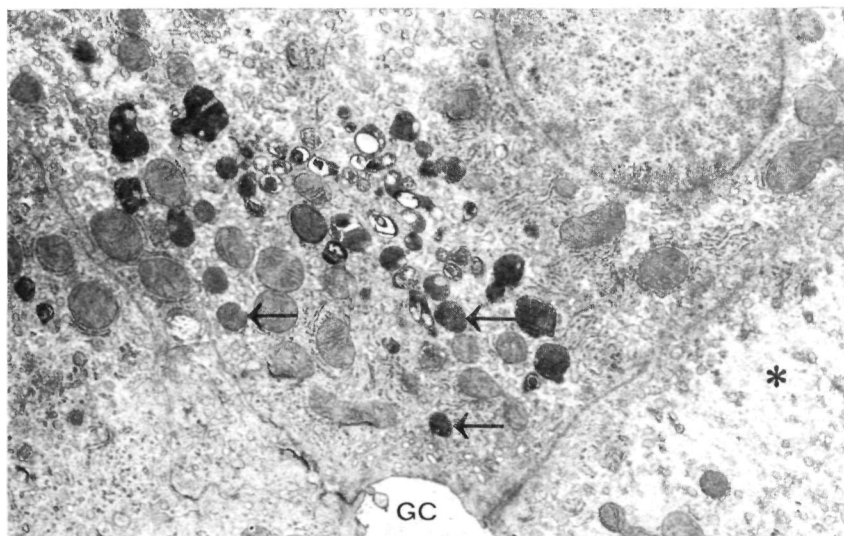
6.2.2 Resultaten

De bevindingen van het electronenmicroscopisch onderzoek van het leverweefsel van de vijf patienten zijn in tabel 9 ondergebracht. In verband met de vraagstelling werd speciale aandacht gegeven aan de vorm en grootte, het aantal microvilli en de inhoud van de galcanaliculi. Deze laatste zijn bij de verschillende patienten steeds verwijd, zij het in wisselende mate. Het aantal microvilli is daarbij afgenomen. Bij alle patienten is de inhoud van de canaliculi vlokkig en osmofiel, met grote waarschijnlijkheid duidend op gal. Deze bevindingen wijzen alle op galstase en zijn vooral bij de patienten BA en D het meest duidelijk. Bij de patienten BA en F kunnen ook in het cytoplasma van de levercellen galbestanddelen worden aangetroffen.

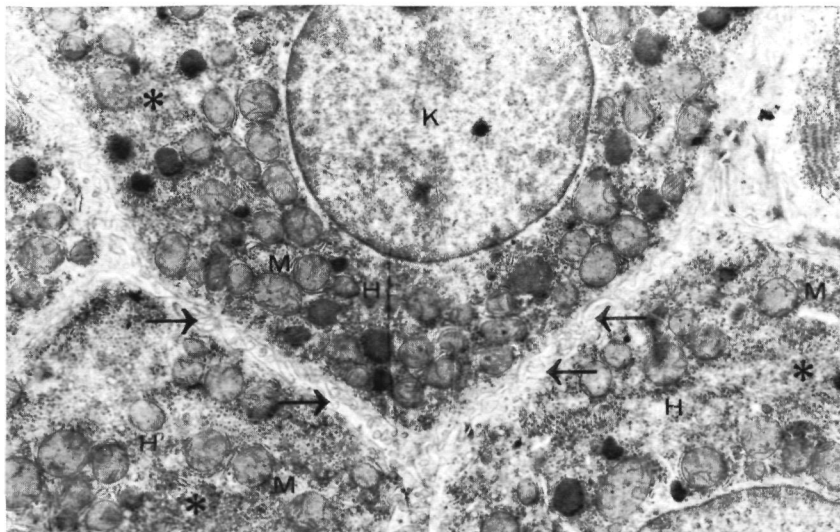
De mitochondrien, het ruwe en het gladde endoplasmatische reticulum, het Golgi apparaat en de kernen, de pericanaliculaire gekken „dense bodies“, alsmede het pericanaliculaire ectoplasma laten bij de verschillende patienten geen grote onderlinge verschillen zien. Daarentegen lopen het aantal „microbodies“ of peroxisomen, de hoeveelheid glycogen, het aantal insluitels zoals lipofusine en vacuolen en het aantal microvilli tussen de cellen onderling uiteen wanneer men de vijf patienten met elkaar vergelijkt. Deze afwijkingen zijn echter niet specifiek, zodat er maar geringe waarde aan mag worden toegekend. Samenvattend blijken er duidelijke tekenen van galstase te zijn, doch ten aanzien van de cytoplasma componenten zijn de afwijkingen zeer uiteenlopend en zonder specifiek karakter. De figuren 15 tot en met 18 tonen enkele van de beschreven electronenmicroscopische afwijkingen.



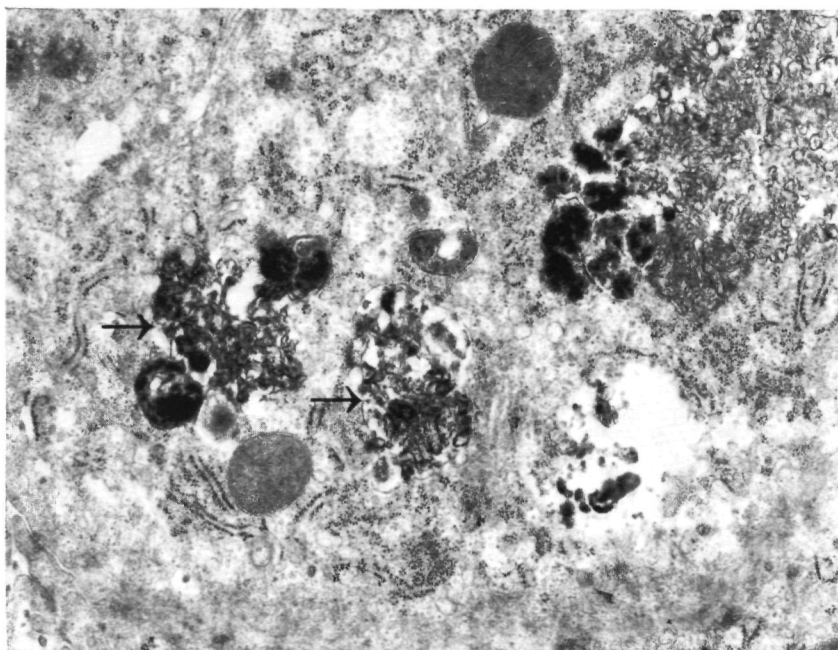
Figuur 15. Tussen de hepatocyten (H) bevindt zich een verwijde galcanaliculus (GC) met een klein aantal microvilli (→). De inhoud bestaat uit een vlokkelig en licht osmiofiel materiaal. In de cellen worden verspreid lipofuscine-insluitsels aangetroffen (↪). Een van de cellen bevat bovendien ook galbestanddelen (*). De mitochondriën (M) zijn rond en gezwollen. Patiënt B.A. 9.000 X.



Figuur 16. Pericanaliculair wordt in één cel een ophoping van „dense bodies” gezien (→). In de meest rechtse cel is veel glycogeen (*) aanwezig. GC: galcanaliculus. Patiënt D. 9.000 X.



Figuur 17. De hepatocyten (H) tonen aan hun celgrenzen talrijke in elkaar grijpende microvilli (→). In deze cellen is veel glycogeen (*) aanwezig. K: kern, M: mitochondrion. Patiënt D. 9.000 X.



Figuur 18. Intracytoplasmatisch worden grote ophopingen van galbestanddelen (→) aangetroffen. Zij hebben een wisselend submicroscopisch aspect. Patiënt F. 13.000 X.

ANALYSE VAN GAL

7.1 OPVANGEN VAN DUODENALE INHOUD

Duodenaal inhoud werd verkregen door middel van sondering van het duodenum (Behrendt 1962). In plaats van een rubber sonde werd gebruik gemaakt van een polytheen sonde (Nr. 10 French).

Het inbrengen van de sonde onder röntgenologische controle werd, zonodig, alleen toegepast bij patiënten en niet bij de controle kinderen. Voor de ingreep werden de kinderen met behulp van chloraalhydraat geseedeerd. Wanneer de hoeveelheid gesecreteerd materiaal afnam, werd 1 a 1,5 ml 33% magnesiumsulfaat oplossing ingespoten via de sonde, om een galblaascontractie te bewerkstelligen. De gal die na magnesiumsulfaat toediening verkregen werd, „B gal”, was bij geen enkele gelegenheid donkerder van kleur dan de eerst opgevangen, zogenaamde „A gal”. Er moest rekening gehouden worden met de mogelijkheid dat de „B gal” vermengd was met magnesiumsulfaat oplossing. De opbrengst aan „B gal” varieerde bovendien vrij sterk.

Om de uitkomsten van de galanalyses zo goed mogelijk onderling te vergelijken, werd gezien bovengenoemde factoren, voor de analyses gebruik gemaakt van A gal.

7.2 ISOLATIE EN BEPALING VAN GALZURIN EN CHOLESTEROL

7.2.1 *Bereiding van geacetylerde methylesters (zie schema 3)*

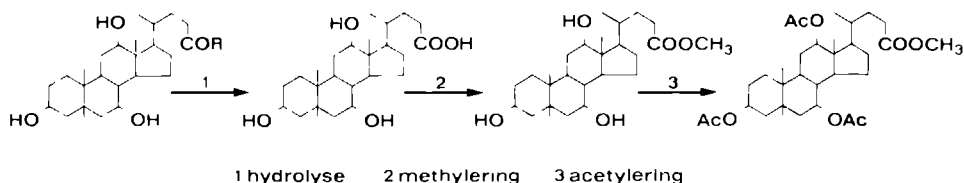
Een ml gal werd, na toevoeging van 5 ml 100% ethanol, gedurende 5 minuten in een kokend waterbad verwarmd. Het gevormde eiwitneerslag werd afgefilterd en tweemaal uitgewassen met 5 ml warme 100% ethanol. Het filtraat werd drooggedampt in een roterende verdampelaar. Nadat het residu was opgenomen in 1 ml 25% KOH in ethyleenglycol, werd de verkregen oplossing gedurende 15 minuten op 200-210°C verwarmd. Na afkoeling werd 1 ml 20% NaCl + 1 ml methanol toegevoegd. Het mengsel werd vervolgens viermaal uitgeschud met 5 ml petroleum ether (k.p. 40°-60°C). De petroleum etherlagen werden bewaard voor de bepaling van cholesterol.

De water-methanol laag werd aangezuurd met 0,8 ml 6 N HCl en, na toevoegen van 8 ml 20% NaCl, 3 maal uitgeschud met 5 ml diethyl

ether. De gecombineerde etherlagen werden drooggedampt, aanvanke-
lijk in een roterende verdamper en tenslotte onder een N_2 -stroom. Het
residu werd opgenomen in 1 ml van een vers bereide oplossing van 5%
HCl in methanol.

Nadat dit mengsel gedurende een nacht bij kamertemperatuur had
gestaan, werd 4 ml 20% NaCl toegevoegd. Het mengsel werd vervolgens
tweemaal uitgeschud met 7 ml diethylether. De gecombineerde ether-
lagen werden drooggedampt op dezelfde wijze als boven beschreven werd.
Het residu werd opgenomen in 0,6 ml van een azijnzuur-azijnzuuranhy-
dride mengsel (5 ml ijsazijn + 5 ml azijnzuuranhydride + 2 druppels
70% $HClO_4$).

Nadat dit mengsel gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur had
gestaan, werd 10 ml 20% NaCl toegevoegd. Het mengsel werd vervol-
gens tweemaal uitgeschud met 5 ml diethylether. De gecombineerde
etherlagen werden drooggedampt, zoals boven beschreven werd, en het
residu werd opgenomen in 0,1-0,4 ml aceton, afhankelijk van de concen-
tratie van galzuren. Het verkregen mengsel was geschikt voor insputting
in de gaschromatograaf.



Schema 3 Bereiding van de geacetyleerde methylester van cholezuur

7.2.2 Isolatie van cholesterol

Bereiding van geacetyleerde verbindingen

Bij de in 7.2.1 beschreven isolatiemethode van galzuren werd na de
alkalische hydrolyse de neutrale lipiden-fractie, die ook het cholesterol
bevat, geëxtraheerd met petroleumether. De gecombineerde petroleum-
etherlagen werden drooggedampt op dezelfde wijze als de etherlagen.
Het residu werd geacetyleerd met het azijnzuur-azijnzuuranhydride-meng-
sel op dezelfde wijze als de galzuren methylesters. Het drooggedampte
etherextract werd dan opgenomen in 0,1 ml aceton.

7.2.3 Gaschromatografische bepaling van galzuren en cholesterol

Voor de gaschromatografische scheiding van de geacetyleerde gal-
zuren methylesters werd gebruik gemaakt van een Hewlett-Packard-

High Efficiency gaschromatograaf (model 102) met een vlamionisatie detector. De kolom (6 voet lang, 3 mm inwendige diameter) was gestuipd met 3% SE 30 op Gas Chrom Q (100/120 mesh).

De snelheid van de stikstofstroom bedroeg 35 ml/minuut, de temperatuur van de oven was 250°. De injectiepoort en de detector werden verwarmd op respectievelijk 300°C en 280°C. Als interne standaard werd lithocholzuur gebruikt. Hiertoe werd voor het begin van de isolatie 600 µg lithocholzuur aan 1 ml gal toegevoegd. Door standaardmengsels aan alle stappen van de isolatie en de analyse te onderwerpen kunnen fouten die te wijten zijn aan verliezen, geëlimineerd worden. De retentietijd van lithocholzuur was gunstig ten opzichte van cholzuur en chenodesoxycholzuur, in die zin dat de retentietijden niet veel verschilden, doch geen overlapping optrad. Onder normale omstandigheden is lithocholzuur in gal van jonge kinderen niet aantoonbaar (zie hoofdstuk 3). Bij de patienten werd de aanwezigheid van lithocholzuur in de gal uitgesloten door het gaschromatogram te vervaardigen met en zonder toevoeging van lithocholzuur aan de gal. Na de keuze van de interne standaard werden de eigen „response“ karakteristieken voor standaard mensels bepaald. De „response“ faktor konclceert de verhouding van de oppervlakten van de pieken van de te bepalen stof en van de gebruikte interne standaard met de verhouding van de hoeveelheden van beide stoffen. Nadat op deze wijze de „response“ factoren van chenodesoxycholzuur en van cholzuur (toev. de standaard lithocholzuur) waren bepaald konden de galzuren in de galmonsters worden bepaald met behulp van de formule:

$$\text{conc. C.D.C. (in mmol/l)} = \frac{\text{opp. C.D.C. piek}}{\text{opp. I.C. piek}} \times \text{conc. I.C. (in mmol/l)} \times \text{I.C.D.C.}$$

C.D.C. — chenodesoxycholzuur

I.C. — lithocholzuur

I.C.D.C. — „response“ faktor van chenodesoxycholzuur tov lithocholzuur

De gaschromatografische bepaling van cholesterol als cholesterolacetat werd uitgevoerd op dezelfde kolom onder dezelfde omstandigheden. Voor de kwantificering werd gebruik gemaakt van een ijklijn, verkregen door verschillende hoeveelheden zuiver cholesterol de gehele bewerking te laten ondergaan.

7.2.1 Massaspectrometrische bepaling van een onbekend galzuur

De identificatie van een onbekende stof in de gal van de patienten BA en H, beide lijdende aan intrahepatische galgangatresie, is massa

spectrometrisch verricht. De massaspectra van referentiestoffen zijn opgenomen met een AEI-MS 12 massa spectrometer (AEI, Manchester, Engeland) met een ionenbrontemperatuur van 120°-110° (directe inlaat).

Massaspectra van galzenen uit de duodenaal inhoud zijn opgenomen via een gecombineerde opstelling van gaschromatograaf-massaspectrometer. De temperatuur van de scheidingsmembraan (V-5620 Molecular Separator, Varian, Palo Alto, Californië, V.S.) en van de ionenbron bedraagt 220°-250°C. De vóógekoppelde gaschromatograaf is een Pye serie 101 apparaat (Pye-Unicam, Cambridge, Engeland) met helium als dragegas. De kolom was gestapeld met 3% QF-1 op Gaschrom Q (100-120 mesh). De temperatuur van de kolom bedroeg 252°C. Het onderzoek betrof zowel de geacetyleerde methyl-esters van de diverse galzuren als de gemethyleerde ketoverbindingen van de galzenen. Deze laatste werden volgens Fyfe en Janssen (1965) gesynthetiseerd door milde oxidatie van de methyl-esters in 1 ml 90% azijnzuur waaraan toegevoegd was 0,2 ml 20% CaO_3 in azijnzuur. Na 15 minuten bij kamertemperatuur, werden 1 ml 10% ascorbinezuur en 9 ml 20% NaCl toegevoegd, waarna met diethylether geëxtraheerd werd. De gecombineerde extracten werden drooggedampt en het residu werd opgelost in 0,5-1 ml aceton. (Eyssen e.a. 1972).

7.3 TOSIOLIPIDENBEPALING

Twee ml duodenaalgal werd gemengd met 40 ml chloroform-methanol (2 : 1, v/v), waarna gedurende 10 minuten werd geroerd. Daarna werd afgefilterd en werd het extract gemengd met 8 ml 0,1 M KCl. Na de fase-scheiding werd de heldere chloroformlaag drooggedampt in een roterende verdampert bij 35°C. De lipiden werden opgelost in 0,1 ml benzeen-ethanol (1 : 1, v/v). Deze oplossing werd bewaard bij -25°C. Voor de dunne laag chromatografie (DLC) werden glasplaten gebruikt waarop gezuiverde silicagel (Silicagel HR; Merck, Darmstadt, Duitsland) met 3 gewichtsprocenten alkalisch magnesiumsilicaat (Woelm, Eschwege, Duitsland) was aangebracht (Broekhuysen 1969). Het lipiden extract werd op de plaat gebracht met een Hamilton microliter spuit of een micropipet.

Aanvankelijk werd gebruik gemaakt van tweedimensionale DLC. Het chromatogram werd daarbij in de eerste richting met chloroform-methanol-7 M ammonia (90 : 51 : 11, v/v) en in de tweede richting met chloroform-methanol-azijnzuur-water (90 : 10 : 12 : 2, v/v) ontwikkeld. Tussen deze beide loopperiodes werden de platen gedurende 30 minuten gedroogd in vacuum boven geconcentreerd zwavelzuur. Na afloop van de chromatografie werden de platen gekleurd met jodiumdamp en de vlek-

ken daarna gemarkeerd. Voor de identificatie van de vlekken en de fosfolipidenbepaling wordt verwezen naar de dissertatie van R.M. Bloekhuysen (1969).

Bij het galonderzoek werd een controle op de lokalisatie van de fosfolipiden verricht d.m.v. de volgende procedures:

De reeds uit de literatuur bekende componenten werden gelokaliseerd door vergelijking van de R_F waarden met die van zuivere standaard lipiden en door specifieke kleureagentia:

- 1 Ninhydrine, reagerend op aminogroepen (rood) hiermee worden aangetoond fosfatidylethanolamine, lyso fosfatidylethanolamine en fosfatidylserine
- 2 Dragendorff's reagens, voor het aantonen van choline, hiermee kleuren fosfatidylcholine, lyso fosfatidylcholine en sphingomyeline licht bruin
- 3 Reagens volgens Dittmer en Lester (1964) hiermee verkrijgt men een blauwkleuring van fosfaat houdende verbindingen. Dit reagens toont daardoor dus alle fosfolipiden aan

Nadat gebleken was dat de te meten componenten elkaar onderling niet overlappen en niet door niet geïdentificeerde fosfolipiden werden overlapt, werd voor de analyse van de galmonsters na enkele analyses met de tweedimensionale D.C. een een dimensionale methode gebruikt. Er werd daarbij een extract van menselijke plasmafosfolipiden als referentie voor de chromatografische positie van de galipiden gebruikt. De een dimensionale chromatogrammen werden behandeld op dezelfde wijze als bij de eerste looprichting van de tweedimensionale chromatografie.

RESULTATEN VAN ANALYSE VAN DUODENAAL GAL VAN NORMALE ZUIGELINGEN EN VAN PATIENTEN MET INTRAHEPATISCHE GALGANGLATRESIE

8.1 KEUZE VAN EEN TIJDSGROEP VAN NORMALE KINDEREN EN VAN DE TE VERRICHTEN ANALYSES

Men zou zich kunnen voorstellen dat een galafvloedstoornis ontstaat ten gevolge van een stoornis in de micelvorming. Zoals in de inleiding werd uiteengezet, werd een onderzoek verricht naar de galzouten-, fosfolipiden- en cholesterolconcentratie van gal, in verband met de functie van deze drie componenten bij de vorming van micellen.

In de literatuur wordt de laatste jaren veel aandacht besteed aan het galzuurmetabolisme. Zo stellen Schaffner en Popper (1969) dat een gestoorde hydroxylering van het steroidskelet zich kan manifesteren in het voorkomen van abnormale galzuren in de gal. Makino e.a. (1971) vonden dat in de urine van kinderen met een extrahepatische galgangatresie relatief grote hoeveelheden 3β -hydroxy- Δ^5 -cholaanzuur voorkwamen. In hoofdstuk 3 werd reeds gewezen op de belangrijke rol die aan de galzouten wordt toegeschreven als „water-dragers“ bij de sekretie van gal, met name op de mogelijkheid dat galstase in een aantal gevallen veroorzaakt wordt door een te lage concentratie van galzouten of door een bijmenging met monohydroxygalzouten. Uit de literatuur blijkt natrium-tauro-lithocholaat bij proefdieren galstase te kunnen veroorzaken (Javitt en Emerman 1968).

Gezien de bijmenging met pancreassekreet en met daarmsappen zal de samenstelling van in het duodenum opgevangen „gal“ niet overeenkomen met de samenstelling van de galblaasgal. De onderlinge verhouding van de drie belangrijke componenten: galzouten, fosfolipiden en cholesterol blijft ondanks bijmenging met andere vloeistoffen gelijk. Door verder een zo constant mogelijke techniek te gebruiken hebben wij getracht duodenaal gal te verkrijgen die zo goed mogelijk onderling vergelijkbaar is.

De normale kinderen van wie de gal onderzocht is zijn gekozen uit de leeftijdsgroep van 0-1 jaar, omdat bij alle patienten de eerste verschijnselen van de ziekte zich gemanifesteerd hebben gedurende het eerste levensjaar. Bovendien is van één overleden neonatus, geboren na een normale zwangerschapsduur, van een praematuur, geboren na

Tabel 10 Samenstelling van duodenaal gal van normale zungelingen

	Leeftijd	Cholzuur *)	Chenodesox cholzuum *)	Cholzuur *) + chenodesox cholzuum *)	Leucithine *) + Isocithine *)	Cholesterol *)	Quotient Galzuur/ Totaal lipiden	Quotient Leucithine + Isocithine/ Totaal lipiden	Quotient Cholesterol/ Totaal lipiden
1	5 weken	14,58	5,12	19,70	1,55	0,81	0,89	0,07	0,04
2	3 mnd	3,70	2,08	5,78	0,94	0,73	0,84	0,05	0,11
3	3½ mnd	1,58	0,42	2,00	1,56	0,39	0,51	0,39	0,10
4	3½ mnd	3,37	1,45	4,82	1,30	0,40	0,74	0,20	0,06
5	4 mnd	4,92	3,82	8,74	0,87	0,72	0,85	0,08	0,07
6	4 mnd	4,21	1,57	5,78	0,72	0,48	0,83	0,10	0,07
7	4½ mnd	3,80	3,38	7,18	1,20	0,41	0,82	0,14	0,04
8	6 mnd	10,23	6,50	16,73	2,00	0,69	0,86	0,10	0,04
9	6 mnd	4,71	4,01	8,72	0,51	0,90	0,92	0,05	0,03
10	6 mnd	1,92	1,80	3,72	1,34	0,63	0,65	0,21	0,11
11	7 mnd	5,76	4,69	10,45	1,22	0,41	0,87	0,10	0,03
12	8 mnd	2,17	1,82	4,29	0,64	0,60	0,78	0,12	0,11
13	10 mnd	3,46	1,11	4,57	0,82	1,02	0,74	0,13	0,16
14	11 mnd	2,77	2,13	4,90	2,29	0,43	0,61	0,30	0,06
15	11 mnd	2,54	2,30	4,85	1,92	1,19	0,66	0,18	0,16
16	12 mnd	12,45	6,56	19,01	0,81	1,34	0,90	0,04	0,06
17	12 mnd	4,69	2,02	6,71	1,87	1,20	0,69	0,19	0,12
18	foet**) (22 weken)	0,3	0,5	0,8	—	—	—	—	—
19	nconatus**) (overleden)	6,6	6,3	12,9	—	—	—	—	—
20	picma tuu**) (overleden)	1,4	1,6	2,9	—	—	—	—	—

*) mmol l **) galblaasgal

een zwangerschapsduur van 32 weken en van een foetus van 22 weken galblaasgal onderzocht. Wegens de te geringe hoeveelheid gal is het niet mogelijk geweest een fosfolipidenbepaling te verrichten in deze laatste drie gevallen. De galzuurbepalingen werden in duplo uitgevoerd.

8.2. RESULTATEN VAN LIPIDENBEPALINGEN IN GAL VAN NORMALE ZUGELINGEN

8.2.1 Concentraties galzuren, fosfolipiden en cholesterol in gal van normale zuigelingen (zie tabel 10)

Allereerst valt op de zeer grote spreiding in de uitkomsten van de analyse van de gal van normale zuigelingen. Ook in de literatuur worden grote onderlinge verschillen in de galsamenstelling gevonden (Nakayama 1967). Het feit dat door ons duodenaal gal i.p.v. galblaasgal gebruikt is, (behalve van de overleden kinderen), draagt bovendien nog bij tot grote onderlinge verschillen.

In tabel 10 is de concentratie van de verschillende lipiden opgegeven in mmol per liter. Dit is noodzakelijk om voor de verschillende galmonsters de plaats te bepalen binnen de driehoek van Admirel en Small (zie hoofdstuk 3 sub 2).

De concentratie cholzuur plus chenodesoxycholzuur blijkt te liggen tussen 2,0 en 19,7 mmol/l. Een relatie met de leeftijd is niet aan te geven. Het quotient cholzuur/chenodesoxycholzuur varieert bij de normale zuigelingen van 1,1 tot 3,7 (resp. bij 10 en 3) en de waarde van dit quotient is eveneens niet gekorreleerd met de leeftijd. Poley *et al.* (1964) vonden bij zuigelingen eveneens een cholzuur-chenodesoxycholzuurverhouding groter dan 1.

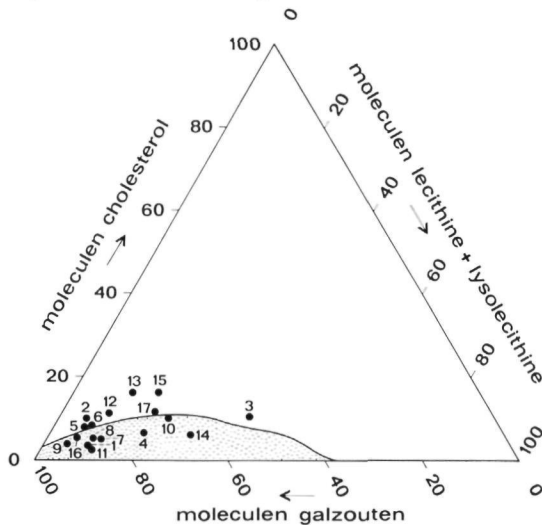
In tabel 10 is de concentratie lecithine plus lysolecithine opgegeven. De grote hoeveelheid lysolecithine, die wij gevonden hebben in vrijwel alle galmonsters (zie tabel 11), moet afkomstig zijn van lecithine. Een direct bewijs daarvoor hebben wij niet geleverd. Doch in aanmerking nemend, dat volgens de literatuur slechts geringe hoeveelheden lysolecithine in de galblaasgal en levergal voorkomen en dat in het duodenum o.a. fosfolipase afkomstig van de pancreas aanwezig is, dat de omzetting van lecithine in lysolecithine katalyseert (De Haas *et al.* 1965), kan met vrij grote mate van waarschijnlijkheid gesteld worden, dat het lysolecithine als lecithine aanwezig is geweest.

De cholesterolconcentratie ligt tussen 0,30 en 1,34 mmol/l, (normaal 0,52-0,57 mmol/l) (zie tabel 1, pag. 40).

Voor het berekenen van de totale concentratie van de galzouten is de concentratie chenodesoxycholaat opgeteld bij de concentratie cholaat. Het is namelijk gebleken dat de galzouten, zoals die voorkomen

in gal, een soortgelijke activiteit vertonen bij de micelvorming als zuiver cholaat (Small 1969).

Uit figuur 19 blijkt dat de punten die de onderlinge verhouding aangeven van de concentraties galzouten, fosfolipiden en cholesterol voor de gal van de normale zuigelingen zich voor het grootste deel binnen het gebied bevinden waar men één micellaire fase vindt. De enkele punten die buiten het „uni-micellaire” gebied liggen, zijn toch vrij dicht bij dat gebied gelegen. De bevindingen die wij gedaan hebben voor gal van normale zuigelingen wijken dus niet belangrijk af van de gegevens die uit de literatuur verkregen worden voor wat betreft galblaasgal van volwassenen (Small 1969). De verhouding galzouten, fosfolipiden en cholesterol die gevonden wordt in duodenaal inhoud kan echter verschillen van de verhouding in de pasgevormde gal, doordat de galblaasmucosa bepaalde galzouten selektief kan resorberen (Wheeler 1971). Ofschoon de omstandigheden bij het duodenaal sonderen zoveel mogelijk gelijk werden gehouden, moet er om bovengenoemde reden een zekere reserve in acht genomen worden, bij het beoordelen van de resultaten.



Figuur 19. Fasen-diagram, betrekking hebbend op galsamenstelling van normale zuigelingen. De genummerde punten geven de verhouding aan van de molaire concentraties galzouten, cholesterol en lecithine + lysolecithine. De nummers komen overeen met de nummers in tabel 10.

8. 2. 2 Fosfolipidenspectrum van gal van normale zuigelingen

In hoofdstuk 3 is al gebleken dat het in de verschillende publikaties opgegeven percentage, dat lecithine uitmaakt van de totale hoeveelheid

fosfolipiden, in gal vrij sterk varieert en om die reden leek ons een differentiering van de fosfolipiden nuttig. Bovendien waren we geïnteresseerd in het fosfolipidenspectrum bij patienten, omdat een afwijkend fosfolipidenpatroon in het serum zich ook in een afwijkend fosfolipidenpatroon in de gal zou kunnen manifesteren. Tenslotte is ons geen onderzoek bekend uit de literatuur waarbij een speciaal onderzoek is gedaan naar het fosfolipidenspectrum van de gal van zuigelingen. Ofschoon sphingomyeline en fosfatidylethanolamine ook een micel vormende werking zouden kunnen hebben is toch alleen de som van de concentraties PC en LPC genomen bij het bepalen van de onderlinge molaire verhouding omdat dit in de literatuur gebruikelijk is en bovendien is de hoeveelheid overige fosfolipiden slechts gering.

Tabel 11 Fosfolipidenspectrum van duodenale gal van normale zuigelingen *)

	Leeftijd	Lysolecithine	Lysofosfatidylethanolamine + sphingomyeline	Lecithine	Fosfatidylethanolamine
1	5 weken	1.52 (91.6%)	0.09 (5.4%)	0.03 (1.8%)	0.02 (1.2%)
2	3 mnd	0.33 (86.8%)	0.03 (7.9%)	0.01 (2.6%)	0.01 (2.6%)
3	3½ mnd	1.51 (93.3%)	0.08 (4.8%)	0.02 (1.2%)	0.01 (0.6%)
4	3½ mnd	1.27 (92.0%)	0.07 (5.1%)	0.03 (2.2%)	0.01 (0.7%)
5	1 mnd	0.86 (91.5%)	0.05 (5.3%)	0.01 (1.1%)	0.02 (2.1%)
6	1 mnd	0.52 (61.2%)	0.06 (7.4%)	0.20 (24.7%)	0.03 (3.7%)
7	1½ mnd	1.18 (92.9%)	0.04 (3.1%)	0.02 (1.6%)	0.03 (2.1%)
8	6 mnd	1.77 (83.5%)	0.10 (4.7%)	0.23 (10.8%)	0.62 (0.9%)
9	6 mnd	0.50 (91.7%)	0.03 (5.5%)	0.02 (3.6%)	— —
10	6 mnd	1.24 (89.7%)	0.40 (2.5%)	0.10 (5.6%)	0.01 (2.2%)
11	7 mnd	1.16 (87.2%)	0.09 (6.8%)	0.07 (5.3%)	0.01 (0.8%)
12	8 mnd	0.63 (90.0%)	0.02 (2.9%)	0.02 (2.9%)	0.03 (4.3%)
13	10 mnd	0.77 (90.6%)	0.04 (4.7%)	0.04 (4.7%)	— —
14	11 mnd	1.69 (72.8%)	0.01 (0.4%)	0.60 (25.9%)	0.02 (0.9%)
15	11 mnd	1.13 (83.1%)	0.04 (2.9%)	0.19 (11.0%)	— —
16	12 mnd	0.83 (90.2%)	0.03 (3.3%)	0.01 (1.1%)	0.05 (5.1%)
17	12 mnd	1.78 (88.6%)	0.10 (5.0%)	0.09 (4.5%)	0.01 (2.0%)

*) mmol/l

In tabel 11 staat achter het getal dat de concentratie van de fosfolipiden aangeeft het percentage vermeld dat elk afzonderlijk fosfolipide uitmaakt van de totale hoeveelheid fosfolipiden.

Naar uit onderzoek met behulp van tweedimensionale dunne laag chromatografie gebleken is, wordt van het gezamenlijk opgegeven lysofosfatidylethanolamine met sphingomyeline verreweg het grootste deel uitgemaakt door lysofosfatidylethanolamine. De som van de percentages lecithine en lysolecithine varieert gedurende het eerste levensjaar van 88,9 tot 98,7, de percentages lysofosfatidylethanolamine samen met sphingomyeline van 0,1 tot 7,9 en het percentage fosfatidylethanolamine van 0,6 tot 5,1. Een bepaalde correlatie met de leeftijd is niet duidelijk aan te tonen in ons materiaal.

8.2.3 *Conclusies omtrent galsamenstelling bij normale zuigelingen*

De voornaamste bevindingen betreffende de galsamenstelling bij normale zuigelingen zijn de volgende:

- 1 De verhouding cholszuur:chenodesoxycholszuur ligt tussen 1,1 en 3,7.
- 2 De punten in de γ g α n driehoek van Adm α nd en Small die de concentratieverhoudingen aangeven voor de drie micellaire componenten in de gal, galzouten, fosfolipiden en cholesterol, liggen voor de meeste normale zuigelingen binnen het gebied waar slechts een, een micellaire, fase aanwezig is in de gal, doch voor enkelen ligt het genoemde punt even buiten dat gebied.
- 3 In duodenaal gal maakt lysolecithine altijd het grootste deel van de fosfolipiden uit.
- 4 De som van de percentages lecithine en lysolecithine verschilt bij normale zuigelingen vrijwel niet van de waarden die in de literatuur zijn aangegeven en die betrekking hebben op volwassenen (Philips 1966, Nakayama en Blomstrand 1961).

8.3 *RESULTATEN VAN LIPIDINBEPALINGEN IN GAL VAN PATIENTEN*

8.3.1 *Concentratie van galzuren, fosfolipiden en cholesterol in patiënte gal (zie tabel 12)*

Indien de gegevens van de groep patienten, ongeacht leeftijd en mogelijke uitschieters, worden vergeleken met die van de groep normalen komt men met behulp van de toets van Wilcoxon voor twee steekproeven tot de volgende conclusies:

- 1 De concentratie lecithine + lysolecithine is niet significant verschillend bij beide groepen ($P = 0,38$).
- 2 De concentraties van cholszuur, van chenodesoxycholszuur en van cholesterol zijn significant lager bij de patienten dan bij de normalen (overschrijdingskansen resp. $P < 10^{-5}$, $P < 10^{-6}$ en $P = 0,02$). (Hierbij zijn steeds de tweezijdige overschrijdingskansen P van de

Label 12*) Samenstelling van duodenaal gal van patiënten lijdende aan IHGA

Patient	Leeftijd	Trihy- droxyco- prostaan- zuur	Cholzuur**)	Cheno- desoxy- cholzuur**)	Chol- zuur + cheno- desoxy- cholzuur**)	Lecithine + lyso- lecithine**)	Choles- terol**)	Quotient Galzuur/ Totaal lipiden	Quotient Lecithine + lysolecithine/ Totaal lipiden	Quotient Cholesterol/ Totaal lipiden
BA	5 mnd	0,11	0,37	0,15	0,52	0,61	0,50	0,32	0,37	0,30
C	6 jaar	—	0,05	0,06	0,11	0,49	0,20	0,17	0,59	0,24
D	6 mnd	—	8,28	1,51	9,79	5,30	0,19	0,64	0,35	0,01
E	6 mnd	—	0,08	0,23	0,31	2,79	0,38	0,19	0,80	0,11
F	3 mnd	—	2,50	1,19	3,69	0,45	0,61	0,78	0,09	0,13
G	4 mnd	—	0,01	0,03	0,04	0,37	0,12	0,08	0,70	0,22
H	3,5 mnd	0,61	0,55	0,28	0,83	—	—	—	—	—

*) Van de patient AA en I was geen gal beschikbaar.

De gegevens over de samenstelling van gal van patiente H verkregen wij van Prof. H. Tysen (Leuven)

***) in mmol/liter.

toets van Wilcoxon opgegeven in perimages) Daarbij valt echter op dat bij een patient (patient D) een opvallend hoge waarde wordt gevonden voor de cholezuurconcentratie

Men moet wel bedenken dat de leeftijdsverdelingen van de patienten en van de normalen niet met elkaar in overeenstemming zijn Bij de 7 onderzochte patienten is er een 6 jaar oud, de overige hebben leeftijden van 3 tot 6 maanden De 17 normalen variëren in leeftijd van 5 weken tot 12 maanden van die groep zijn er 10 tussen 5 weken en 6 maanden oud Als deze groep van 10 wordt vergeleken met de 7 overige normalen, vindt men alleen een significant verschil wat betreft de concentratie cholesterol, deze concentratie is bij de normalen die ouder zijn dan 6 maanden, wellicht ten gevolge van enkele uitschieters, significant hoger dan bij de jonge normalen ($P = 0,05$) Op grond daarvan is de concentratie cholesterol voor de vijf patienten van 5 tot 6 maanden oud bij wie de bepaling is verricht, vergeleken met die van normalen van 6 maanden en jonger Daarbij werd geen significant verschil meer gevonden ($P = 0,10$)

Een aanzien van de concentraties van de overige stoffen werd geen enkele aanwijzing voor een verschil tussen de oudere en jongere normalen gevonden

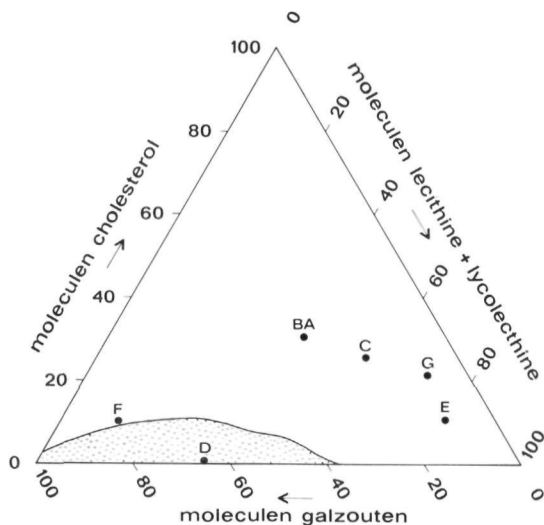
Bij de bepalingen van de concentraties cholezuur en van lecithine + lysolecithine zijn enkele waarden gevonden die wellicht uitschieters zijn Bij de geringe aantallen waarnemingen heeft het weinig zin daarvoor een statistisch uitschieterscriterium toe te passen Er is echter wel nagegaan in hoeverre de conclusies zouden veranderen als de uitschieters zouden worden weggelaten Dit waren voor cholezuur drie hoge waarden in de groep normalen en een bij de patienten worden deze buiten beschouwing gelaten dan blijft het verschil tussen patienten en normalen significant ($P = 0,0015$) Evenzo zijn de twee hoogste waarden voor lecithine + lysolecithineconcentratie bij de patienten buiten beschouwing gelaten In dat geval zijn de overgebleven waarden voor de patienten zeer significant lager dan voor normalen ($P < 10^{-5}$)

Samenvattend lijkt het verantwoord te concluderen — ondanks de verschillen in leeftijdsverdeling tussen patienten en normalen en enkele mogelijke uitschieters in de bepalingen — dat in elk geval de cholezuur en de chenodesoxycholezuur concentratie bij patienten lager zijn dan bij normalen

In figuur 20 is voor de patienten van wie wij gif hebben onderzocht, aangegeven hoe de onderlinge verhouding van de gallipiden is De verhoudingen van de molane concentraties galzouten fosfolipiden en cholesterol zijn voor de patienten BA, C, E en G duidelijk afwijkend, vooral wat betreft de geringe hoeveelheid galzouten Bij deze patienten blijkt bovendien dat de verhouding van de concentraties van de lipiden

zodanig is, dat deze ver buiten de „uni-micellaire” fase valt. Bij patiënt BA is het trihydroxycoprostaanzuur (zie verder) niet bij de totale hoeveelheid galzuren opgeteld omdat het gedrag van deze stof bij de micellaire opbouw niet bekend is. Uit de beschouwing van de plaats binnen de driehoek van Admirand en Small blijkt dit geen invloed te hebben op de ligging van punt BA binnen of buiten het uni-micellaire gebied. Wanneer we de buiten het gestippelde gebied gelegen punten beschouwen, dan blijkt dat bij de patiënten BA, C, E en G een relatief lage concentratie galzuren te zien is, terwijl bij normalen (13, 15 en 17) een relatief hoge cholesterolconcentratie gevonden werd.

Daarnaast wordt als meest opmerkelijke bevinding een extra piek gezien op het gaschromatogram van de gal van de patiënten BA en H (figuur 21). Bij nader onderzoek blijkt deze piek trihydroxycoprostaanzuur te representeren waarover meer zal volgen in hoofdstuk 9. Voor de concentratie van het trihydroxycoprostaanzuur wordt verwezen naar tabel 12.



Figuur 20. Fasen-diagram waarin de onderlinge molaire verhoudingen zijn aangegeven van de gallipiden: galzouten, cholesterol en lecithine + lysolecithine, zoals die gevonden zijn voor de patiënten BA, C, D, E, F, en G.

8.3.2 Fosfolipidenspectrum van patiëntegal

In tabel 13 is de concentratie van de belangrijkste fosfolipiden in de gal van de patiënten op dezelfde manier weergegeven als in tabel 11

voor gezonde zuigelingen. Wanneer we beide tabellen vergelijken blijkt dat er tussen de som van de percentages lecithine + lysolecithine bij beide groepen volgens de toets van Wilcoxon geen significant verschil aan te geven is ($P = 0,09$). Bij de patiënten komt één zeer laag percentage voor. Als dit bij de vergelijking wordt weggelaten verandert het toetsresultaat niet.

Tabel 13. Fosfolipidenspectrum van gal van patiënten met IHGA

Patient	Lysolecithine*)	Lysofosfatidyl- ethanolamine + sphingomyeline*)	Lecithine*)	Fosfatidyl- ethanolamine*)
BA	0,55 (80,9%)	0,05 (7,3%)	0,06 (8,8%)	0,02 (2,9%)
C	0,17 (83,9%)	0,06 (10,7%)	0,02 (3,5%)	0,01 (1,8%)
D	1,99 (89,0%)	0,24 (4,3%)	0,27 (4,9%)	0,06 (1,1%)
E	2,75 (97,1%)	0,03 (1,1%)	0,01 (1,1%)	0,01 (0,3%)
I	0,3 (37,9%)	0,2 (25,2%)	0,15 (18,9%)	0,11 (17,7%)
G	0,29 (65,9%)	0,03 (6,8%)	0,08 (18,1%)	0,04 (9,1%)

*) mmol/l

TRIHIDROXYCOPROSTIENZUUR

9.1 GASCHROMATOGRAPHISCH ONDERZOEK

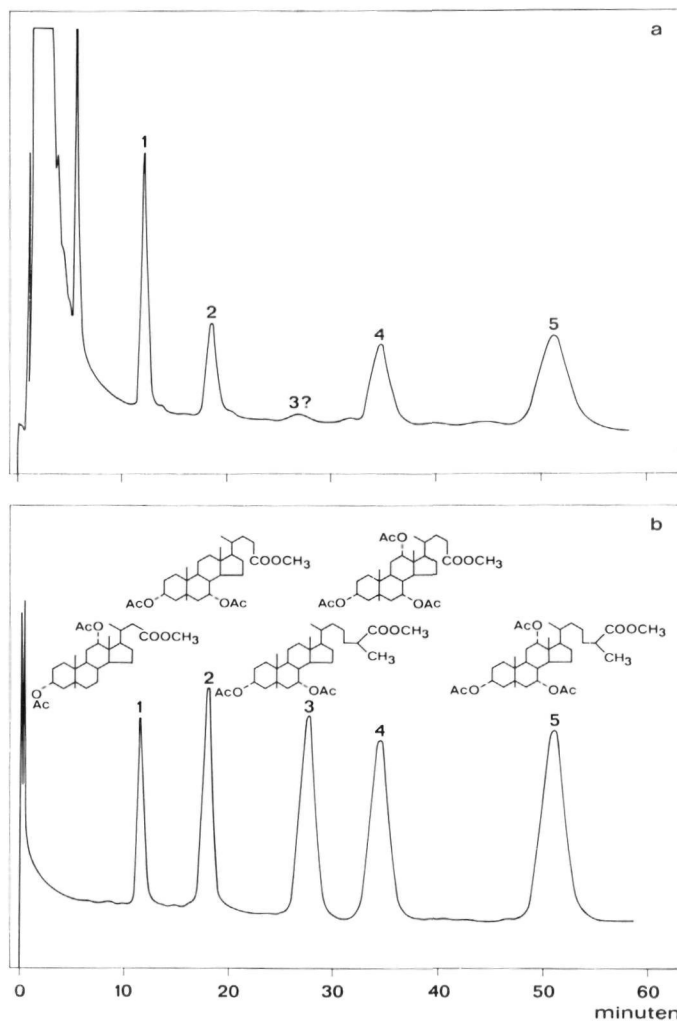
Trihydroxycoprostaanzuur is de triviale naam voor 3α , 7α , 12α trihydroxy 5β cholestaan 26 carbonzuur. Bij het gaschromatografisch onderzoek van gal van patienten B en H werd, zoals in hoofdstuk 8 is medegedeeld, een extra piek waargenomen (fig. 21a) die geïdentificeerd werd als trihydroxycoprostaanzuur.

Het blijkt dat de retentietijd van de geacetylerde methylester van de stof die deze piek geeft, correspondeert met die van trihydroxycoprostaanzuur. Het referentiemateriaal werd geïsoleerd uit gal, die verkregen is uit de galblaas van een *Alligator mississippiensis* (Gysen e.a. 1972). Behalve de grote piek (5), die vermoedelijk trihydroxycoprostaanzuur voorstelt is op het gaschromatogram van gal van patienten B en H nog een kleine piek (3) waarneembaar met dezelfde retentietijd als dihydroxycoprostaanzuur 3α , 7α dihydroxy 5β cholestaan 26 carbonzuur), dat eveneens geïsoleerd werd uit alligator gal. De hoeveelheid van deze component in de patientegal is echter te gering om met behulp van massaspectrometrisch onderzoek geïdentificeerd te kunnen worden.

9.2 MASSASPECTROMETRISCH ONDERZOEK

De identiteit van piek 5 is verder massaspectrometrisch bevestigd. Het blijkt dat de methylester van het geacetylerde trihydroxycoprostaanzuur molecuul (M) geen piek te zien geeft op het massaspectrum als intact moleculair ion (massa 590) omdat er een te snelle eliminatie van een geacetylerde hydroxylgroep optreedt doch van de volgende karakteristieke fragment ionen worden wel pieken gezien: massa 530 ($M - HOAc$), massa 499 ($M - HOAc - OCH_3$), massa 488 ($M - HOAc - CH_2 = CO$), massa 170 ($M - 2HOAc$), massa 110 ($M - 3HOAc$), massa 313 ($M - zijketen - 2HOAc$), massa 253 ($M - zijketen - 3HOAc$). Bij het massaspectrometrische onderzoek van de methylester van het in de keto verbinding omgezet trihydroxycoprostaanzuur (formule zie figuur 22) wordt het moleculaire ion wel gezien (massa 458) (M^+). Andere karakteristieke fragment ionen worden gevonden bij massa 440 ($M^+ -$

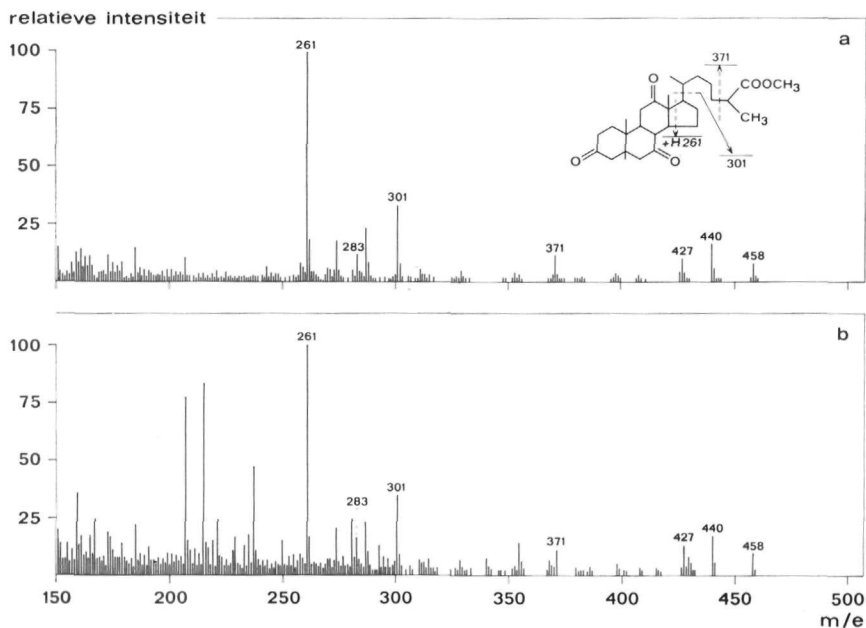
H_2O), massa 427 ($\text{M}^1 - \text{OCH}_3$), massa 371 ($\text{M}^1 - \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{COOCH}_3$), massa 301 ($\text{M}^1 - \text{zijketen}$), massa 283 ($\text{M}^1 - \text{zijketen} - \text{H}_2\text{O}$), massa 261 (fragmentatie van de D-ring).



Figuur 21. Gaschromatogram van de geacetyleerde methylesters van de galzuren in de duodenaal gal van patiënte H (a) en van de referentiegalzuren (b). Stationnaire fase: 3% QF-1 bij 252°C . 1. interne standaard (23-nordesoxycholzuur); 2. chenodesoxycholzuur; 3. dihydroxycoprostaanzuur; 4. cholzuur; 5. trihydroxycoprostaanzuur.

Vergeleken met cholzuur, geeft de stof die piek 5 representeert, een identiek patroon wat betreft het steroidskelet, doch een zijketen die

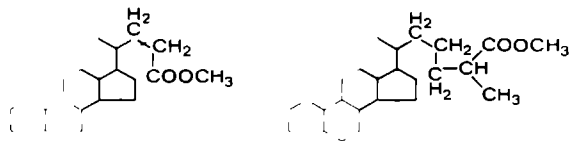
ervan verschilt door het bezit van 3 C-atomen meer. Deze konklusie is gebaseerd op de waarneming dat zowel voor de ketonen als voor de acetaten van de onbekende stof geldt, dat de fragment ionen die ontstaan na het afsplitsen van de zijketen en na de D-ring fragmentatie, identieke massagetallen bezitten als de overeenkomstige fragment ionen van cholzuur. Bovendien geven de moleculaire ionen en fragment-ionen die ontstaan door verlies van H_2O (bij de ketonen) of van azijnzuur (bij de acetylestere) een verschil te zien van 42 massa eenheden (C_3H_6) tussen cholzuur en de onbekende stof. Vervolgens toont het massaspectrum van de triketon methylester van cholzuur een verlies van 73 massa eenheden ($-\text{CH}_2\text{-COOCH}_3$) afkomstig van de zijketen.



Figuur 22. Massaspectrum van de triketon-methylester van kristallijn trihydroxycoprostaanzuur, geïsoleerd uit gal van de Alligator mississippiensis (a) en massaspectrum van de triketon-methylester van piek 5, afkomstig van de duodenaal gal van patiënte H. Massaspectrum (a) is verkregen door directe inlaat, (b) door een gekoppelde gaschromatograaf-massaspectrometer opstelling. De pieken bij m/e 355 en 281 zijn toe te schrijven aan de „background” van het gaschromatografiesysteem.

Uit een korresponderend verlies van 87 massa eenheden in het massaspectrum van piek 5 is te konkluderen, dat er een carboxylgroep aanwezig is op de C-26 of C-27 plaats (zie formule trihydroxycoprosta-

zuur), en dat er zich een methylgroep in de α -positie van de carboxylgroep bevindt (zie figuur 23).



Figuur 23. Cholzuur (links) verliest tijdens fragmentatie 73 massa eenheden ($\text{CH}_2\text{-COOCH}_3$), terwijl trihydroxycoprostaanzuur 87 massa eenheden verliest ($\text{CH}_3\text{-CH-COOCH}_3$)

Deze uitkomsten, verkregen voor de onbekende stof, passen bij een C-27 galzuur, zoals trihydroxycoprostaanzuur. Het bewijs hiervoor is geleverd door de waarneming dat het massaspectrum van de triketonmethylester van authentiek trihydroxycoprostaanzuur identiek is aan dat van piek 5. De extra pieken zijn toe te schrijven aan de „background” van het gaschromatografische systeem (zie fig. 22).

9.3 ONDERZOEK NAAR HET VOÓRKOMEN VAN TRIHYDROXYCOPROSTAANZUUR IN GAL BIJ NORMALEN EN PATIËNTEN LIJDEND AAN DIVERSE ZIEKTEN

Behalve patiënten BA en H, bleek geen van onze andere patiënten van wie wij gal ter beschikking hadden, het trihydroxycoprostaanzuur via de gal uit te scheiden. Daarnaast werd bij een aantal gezonde zuigelingen en kinderen en een aantal kinderen lijdend aan diverse ziekten van de tractus digestivus nagegaan of trihydroxycoprostaanzuur bij hen voorkwam in de duodenaal gal. Het bleek dat bij geen van deze controles en patiënten ook maar een spoor trihydroxycoprostaanzuur werd gevonden in de gal. (zie tabel 14)

9.4 CONCLUSIE

Met behulp van gaschromatografisch en massaspectrometrisch onderzoek is in de gal van patiënt BA en van patiënte H duidelijk aantoonbaar trihydroxycoprostaanzuur gevonden. Bij de andere patiënten met IHGA kan deze stof niet aangetoond worden in duodenaal vocht. Evenmin wordt het trihydroxycoprostaanzuur aangetroffen in de duodenaal inhoud van een aantal andere zuigelingen met een cholestatische ikterus. Ook bij een aantal zuigelingen en oudere kinderen met uiteenlopende ziekten wordt geen spoor van het abnormale galzuur in de gal aangetroffen.

Tabel 14 Galzuurpatroon bij gezonde kinderen en bij enkele ziekten

Leeftijd				Diagnose	Cholzuur*)	Chenodesoxy cholzuur*)	Desoxycholzuur*)	Lithocholzuur*)	Trihydroxy coprostaanzuur*)
1	3	mond	normaal		3.01	3.27	n.a.	n.a.	n.a.
2	4	mond	normaal		6.34	4.22	sp.	n.a.	n.a.
3	7	mond	normaal		3.17	1.33	0.03	n.a.	n.a.
4	7	mond	normaal		0.87	0.17	n.a.	n.a.	n.a.
5	15	mond	normaal		1.32	1.97	sp.	n.a.	n.a.
6	3½	jaar	normaal		2.91	1.71	1.35	sp.	n.a.
7	5	jaar	normaal		1.78	1.57	0.56	sp.	n.a.
8	2	mond	galstasc. c.c.i.		0.23	0.25	n.a.	n.a.	n.a.
9	3	mond	galstasc. c.c.i.		0.22	0.06	n.a.	n.a.	n.a.
10	3½	mond	galstasc. c.c.i.		2.10	1.03	n.a.	n.a.	n.a.
11	3	mond	koemelkallergie		6.16	3.06	n.a.	n.a.	n.a.
12	12	mond	koemelkallergie		1.71	0.78	0.14	n.a.	n.a.
13	7	mond	enteritis		1.61	2.17	n.a.	n.a.	n.a.
14	8	mond	malabsorptie		8.05	1.14	n.a.	n.a.	n.a.
15	6	mond	tropische spruw		15.30	4.48	n.a.	n.a.	n.a.
16	16	mond	pancreasinsufficiëntie		2.36	1.19	0.59	n.a.	n.a.
17	2	jaar	congenitaal lymphoedeem		1.38	0.82	0.62	n.a.	n.a.
18	3½	jaar	M. Hirschsprung		13.90	6.72	3.21	sp.	n.a.
19	2	jaar	coeliakie		1.19	1.95	n.a.	n.a.	n.a.
20	6	jaar	coeliakie		7.27	12.2	3.73	n.a.	n.a.

*) mmol/liter

sp. spoor, dit is minder dan 2% van totaal galzouten

n.a. niet aantoonbaar

DISCUSSIE

10.1 INDELING VAN EIGEN PATIENTEN MET INTRAHEPATISCHE GALANGAETRIJSIE

Op grond van alle gegevens die zijn verkregen bij onze eigen patienten kunnen wij hen als volgt indelen

1. Patienten AA, BA en H. De overwegingen die ertoe geleid hebben deze patienten in dezelfde groep onder te brengen zijn de volgende: patient AA en patient BA behoren tot een gezin. Het identieke ziekteverloop en pathologisch-anatomische beeld gevoegd bij het feit van de familiariteit, zijn ons inziens voldoende redenen de aan doening van de beide broers te beschouwen als een identiek ziektebeeld. De reden om patiente H in dezelfde groep in te delen als AA en BA is de bevinding van trihydroxycoprostaanzuur in de gal van patiente H evenals in gal van patient BA. Daarbij moet bedacht worden dat bij geen van de andere patienten, noch bij kinderen uit een controlegroep trihydroxycoprostaanzuur aantoonbaar was. Bovendien menen wij dat van het trihydroxycoprostaanzuur een etiologische betekenis toegekend zou kunnen worden voor de genese van het ziektebeeld IHGA (zie verder).
2. Patienten C, L, G en I, lijdende aan IHGA en tevens aan een afwijking van hart of grote vaten, terwijl een van hen (patient I) daar bij nog een extrahepatische galgangatrijsie bezit.
3. Patienten D en F lijdend aan IHGA zonder bijkomende aangeboorte afwijkingen.

Het is niet te bewijzen dat tussen de categorieën 1, 2 en 3 een verschil in etiologie bestaat. Type 1 lijkt echter wel gezien de familiariteit en het duidelijk afwijkende galzuimpatroon een aparte entiteit te zijn ondanks het feit dat van patient AA geen gal beschikbaar was voor onderzoek en het dus niet vaststaat dat bij hem ook trihydroxycoprostaanzuur in de gal aanwezig is geweest. Vervolgens is voor de onderverdeling van de overige patienten in categorie 2 en categorie 3 geen andere motivering te bedenken dan de reeds boven genoemde

Een van de meest voor de hand liggende hypothesen over het ontstaan van type I is de volgende:

Door een blokkering in de reaktieketen (zie schema 2 op blz. 12) die doorlopen wordt bij de vorming van cholzuur uit cholesterol (tussen trihydroxycoprostaanzuur en cholzuur), is de aanmaak van cholzuur verminderd en ontstaat er een ophoping van trihydroxycoprostaanzuur. Bij de mens is aangetoond dat trihydroxycoprostaanzuur een voorstadium is van cholzuur (Carey 1961). Het is in normale omstandigheden ook in zeer kleine hoeveelheden aan te tonen in humane gal. (Carey en Haslewood 1963) Uit tabel 14 blijkt echter dat in geen enkel geval trihydroxycoprostaanzuur met de gebruikte techniek aantoonbaar was in gal van anderen dan de patienten BA en H.

De wijze van omzetting van trihydroxycoprostaanzuur in cholzuur is voor de mens niet met zekerheid bekend.

Volgens Haslewood (1967) vindt er bij zoogdieren waarschijnlijk een afsplitsing plaats van 3 C-atomen. Sudd e.a. (1952) toonden in levermitochondrien van de rat aan, dat deze afsplitsing plaats vindt in de vorm van propionyl Co A.

Carey (1964) acht het waarschijnlijk dat er, ook bij de mens, meerdere reakties mogelijk zijn voor de vorming van cholzuur; als mogelijke reaktie geeft hij aan de omzetting van bishomocholzuur 3α , 7α , 12α - trihydroxy - 23, 21 bishomocholaanzuur tot cholzuur (schema 1, reaktie 2). Hij is wel van mening, dat de omzetting via trihydroxycoprostaanzuur de belangrijkste weg is voor de vorming van cholzuur. (schema 4, reaktie 1).

Ook kan gewezen worden op de bevinding van Cronholm en Johansson (1970) dat rattelevermicrosomen in staat zijn 5β - cholestaan - 3α , 7α , 12α -triol, welke stof een tussenprodukt is bij de vorming van trihydroxycoprostaanzuur, om te zetten in verschillende tetrolen nl :

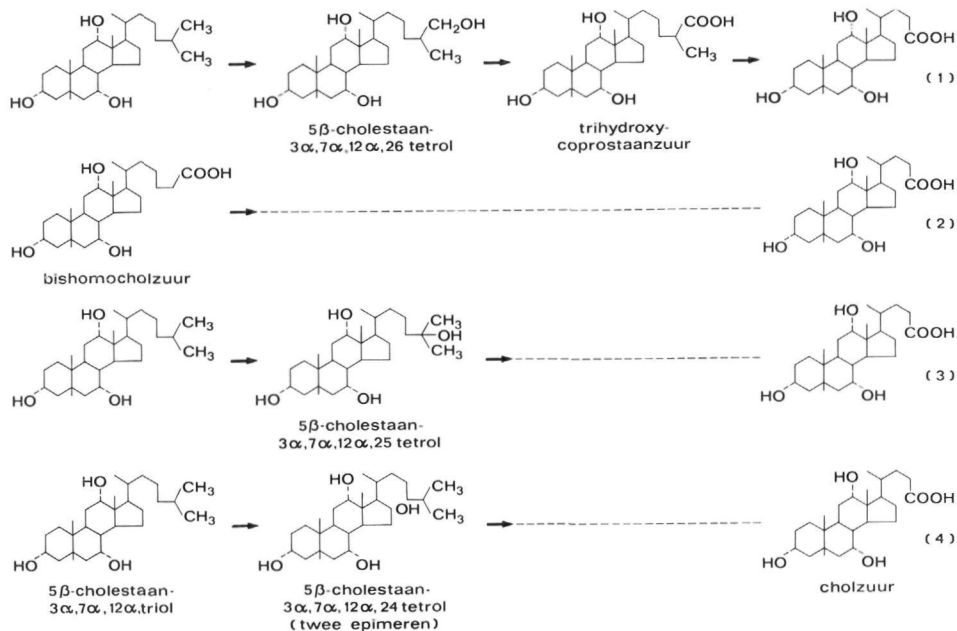
5β - cholestaan - 3α , 7α , 12α , 26-tetrol, 5β - cholestaan - 3α , 7α , 12α , 25-tetrol en de twee epimeren 5β - cholestaan - 3α , 7α , 12α , 24-tetrol.

Het is gebleken dat deze vier tetrolen alle in cholzuur kunnen worden omgezet door dezelfde microsomale fraktie (zie schema 1). 5β - cholestaan - 3α , 7α , 12α , 26-tetrol blijkt echter verreweg het meest effectief omgezet te worden in cholzuur; (deze omzetting wordt het sterkst geremd door CO-intoxicatie) Men zou zich daarom kunnen voorstellen, dat de omzetting van de 26-tetrol anders verloopt dan van 24- en 25-tetrolen.

Uit de formules is ook af te leiden dat de 24- en 25-tetrolen niet via trihydroxycoprostaanzuur zijn om te zetten tot cholzuur, tenzij de 24- resp. 25-hydroxylgroep uit het molecuul verdwijnt. Op grond daarvan

wordt het onwaarschijnlijk geacht dat omzetting van de 24- en 25-tetrolen tot cholzuur via trihydroxycoprostaanzuur verloopt.

Het feit nu, dat er een verhoging van het trihydroxycoprostaanzuur gevonden wordt en er toch ook cholzuur gevormd wordt, zou kunnen wijzen op een blokkering van reactie 1 en een stimulering van reactie 2 en/of 3 en/of 4. (zie schema 4). Het netto resultaat zou zijn: minder vorming van cholzuur en ophoping van trihydroxycoprostaanzuur. Er zal echter toch nog cholzuur gevormd worden via andere wegen. Een andere mogelijkheid is dat de metabole blokkering niet volledig is.



Schema 4. Reacties leidend tot de vorming van cholzuur; (1) normale reactie bij de mens; (2) omzetting van bishomocholzuur in cholzuur; (3) en (4) omzetting van 5 β -cholesta-3 α ,7 α ,12 α -triol in cholzuur resp. via de 25-tetrol- en de 24-tetrol-verbinding.

Zoals in hoofdstuk 4 geconcludeerd werd, staat het niet vast dat galstase steeds een verdwijnen van galgangen tot gevolg heeft. Men mag dus niet stellen dat met het aantonen van een gedeeltelijk geblokkeerde cholzuursynthese, die een verhindering van de galstroom tot gevolg heeft, de genese van de intrahepatische galgangatresie bij deze patiënten (BA en H) verklaard is. De invloed van een onvoldoende galstroom op een atresie van de intrahepatische galgangen is zeker niet bewezen. Ons inziens is het tijdstip waarop de galstase begint, van belang bij de bespreking van dit probleem, zoals uit het onderstaande moge blijken.

Het tijdstip waarop de foetale lever galzuren begint te produceren ligt in ieder geval vóór de 22ste zwangerschapsweek (Poley et al. 1964). Daarnaast geven Elias en Shernick (1969) aan, dat in een foetus van ± 20 weken de vorming van de intrahepatische galgangen nog in volle gang is.

Zoals in hoofdstuk 2 werd beschreven zet de ontwikkeling van de intrahepatische galgangen zich voort vanuit het hilusgebied naar perifeer. Omdat er tijdens de foetale ontwikkeling gelijktijdig galzuurvorming en uitgroei van intrahepatische galgangen optreedt, kan men zich afvragen of de cholsuimproductie en afvoer mogelijk een stimulerende invloed op de groei van die galgangen heeft. Wanneer die stimulerende werking inderdaad bestaat, zou een cholsuimsynthese stoornis een hypoplasie van de kleinere intrahepatische galgangen tot gevolg kunnen hebben. Een andere mogelijkheid zou zijn dat trihydroxycoprostaanzuur een toxische werking zou hebben en door die werking de uitgroei van de galwegen zou storen.

Samenvattend is de hypothese omtrent het ontstaan van de intrahepatische galgangatresie bij onze patiënten AA, BA en H als volgt: door een genetisch bepaalde enzymdeficiëntie is de cholsuurvorming in de levercellen verminderd. Als gevolg treedt al in een zeer jong foetaal stadium een vermindering van de galstroom in de intrahepatische galwegen op, waardoor intrahepatische galgangen onvoldoende uitgroeien of verdwijnen. Het blijft echter onverklaard waarom galwegen van een groter kaliber wel aanwezig zijn, hoewel soms ook hypoplastisch.

10.3 COMBINATIE VAN INTRAHEPATISCHE GALGANGATRESIE EN HARTAFWIJKINGEN

Bij vier van de eigen patiënten werd een aangeboren afwijking aan hart of grote vaten vastgesteld. Bij patiënt C waren er duidelijke afwijkingen voor het bestaan van een stenose van de arteria pulmonalis, welke echter niet door middel van hartcatheterisatie werd bewezen. Patiënte E leed aan een ernstige vorm van coarctatio aortae en patiënt I had een valvulaire pulmonalis stenose en een hypoplasie van de pulmonaal arteriën. Bij patiënte G was nog geen diagnose gesteld.

Ook bij de patienten met IHGA, die in de literatuur zijn beschreven, komen frequenter hartafwijkingen voor dan normaal te verwachten zou zijn. Bij 3 van de 23 patiënten die in hoofdstuk 2 zijn opgesomd is vermeld dat zij een aangeboren hartgebrek hadden. Het gecombineerde voorkomen van afwijkingen aan de galwegen en aan hart of grote vaten doet de vraag rijzen of er etiologische samenhang tussen beide bestaat. Aangezien echter bij geen van de patiënten uit de literatuur, noch bij onze eigen patiënten een causaal agens aangegeven kan wor-

den van het leverlijden of van het hartlijden is een etiologisch verband niet te bewijzen

Men zou wel kunnen nagaan of er een tijdsrelatie bestaat tussen de aanleg van de intrahepatische galwegen en van het hart. Zoals boven werd vermeld is de ontwikkeling van de intrahepatische galwegen tijdens de 20ste zwangerschapsweek nog niet voltooid. Het begin van de ontwikkeling ligt echter in de buurt van de 9e week (Elias en Sherrick 1969). Volgens Pliess (1962) ontstaan afwijkingen aan hart en grote vaten het meest frequent in de periode van de vijfde tot en met de negende week van de zwangerschap. Het is zeker goed denkbaar dat een bepaalde noxe zowel teratogeen werkt op het hart, als op de vroege ontwikkeling van de intrahepatische galgangen.

De pathogenese van IHGA bij deze groep patienten is in dat geval anders dan de door ons veronderstelde pathogenese bij de patienten AA, BA en H. Bij de vorm van IHGA waarbij ook een hartafwijking voorkomt zou men te maken hebben met een diffuse embryopathie en bij de patienten AA, BA en H zou de atresie, zoals reeds gezegd, het gevolg zijn van het ontbreken van een inducerende factor voor de aanleg van de intrahepatische galgangen in de cholruim.

Bij patient I is er eveneens een atresie van de extrahepatische galgangen. In dit geval zou men kunnen stellen dat de stoornis nog enige weken vroeger is opgetreden, omdat de extrahepatische galgangen tussen de 7e en 9e week aangelegd worden (Elias en Sherrick 1969).

Het feit dat de patienten met type I geen bijkomende hartafwijkingen hadden, is in overeenstemming met de hierboven voorgestelde gang van zaken.

Bij type 3 (zie boven) waarbij geen andere aangeboren afwijkingen voorkomen, en geen trihydroxycoprostaanzuur is aangetoond kunnen we dus geen verband leggen met enige andere afwijking en moeten wij dus een geïsoleerde ontwikkelingsstoornis van de intrahepatische galgangen aannemen. Het is echter mogelijk dat er geen verschil in etiologie bestaat tussen type 2 en type 3.

Samenvattend worden bij onze patienten drie verschillende typen IHGA onderscheiden. Het eerste type kan familiaal voorkomen en wordt veroorzaakt door een hypothetische, aangeboren stofwisselingsziekte, die in een late fase van de ontwikkeling van de intrahepatische galwegen stilstand in die ontwikkeling veroorzaakt. De tweede vorm wordt vermoedelijk veroorzaakt door een vroeg embryonale beschadiging, die ook een aangeboren hartgebrek veroorzaakt. Bij het derde type komt geen aangeboren hartafwijking voor, noch een uitscheiding van trihydroxycoprostaanzuur. De etiologie zou dezelfde kunnen zijn als van type 2.

In dit proefschrift worden een aantal onderzoeken beschreven die zijn verricht bij negen patienten lijdende aan intrahepatische galgangatresie.

De benaming intrahepatische galgangatresie wordt gebruikt om een ziektebeeld aan te duiden waarbij in de lever een aanzienlijke vermindering van het aantal interlobulair galgangen bestaat.

In hoofdstuk 1 wordt een aantal familiaal voorkomende neonatale leverziekten gepaard gaande met stuwingsikterus besproken. De reden daarvoor was het feit dat twee van onze eigen patienten broers waren. Bovendien leek ons een bespreking van de neonatale stuwingsikterus wenselijk omdat de differentiaal diagnostiek grote moeilijkheden kan opleveren.

In hoofdstuk 2 wordt een literatuuroverzicht gegeven betreffende intrahepatische galgangatresie. In wordt daarbij in het bijzonder ingegaan op de beschrijving van de histologische bijzonderheden bij de ziekte en het blijkt dat vrijwel nooit een totaal ontbreken van de intrahepatische galgangen gezien wordt. Dit zou een reden kunnen zijn om als benaming hypoplasie te gebruiken in plaats van atresie.

Daar galstase een van de belangrijkste verschijnselen is bij intrahepatische galgangatresie en omdat aan galstase zelfs een etiologische rol toegeschreven zou kunnen worden is in hoofdstuk 3 een overzicht gegeven over de samenstelling van gal en het mechanisme van de secretie van gal terwijl in hoofdstuk 4 de belangrijkste biochemische en histologische verschijnselen van galstase besproken worden.

De klinische beschrijving van de eigen patienten wordt gegeven in hoofdstuk 5 waarin ook routine klinisch-chemische bevindingen worden vermeld. Bij alle patienten werd een hyperbilirubinemie vastgesteld. Transaminasen en alkalische fosfatase waren in de meeste gevallen verhoogd. Bij ongeveer de helft van de patienten was het serum cholesterolgehalte verhoogd. Slechts een van hen toonde een xanthomatosis.

Een vergelijkend overzicht van de histologische bevindingen zowel in biopsiemateriaal als in autopsiemateriaal is te vinden in hoofdstuk 6. Het leverweefsel van alle patienten toonde een significante afname van het aantal interlobulaire galgangen en tekenen van galstase. Daarnaast werd van vijf patienten levermateriaal electronen microscopisch onderzocht. Het electronen microscopische onderzoek leverde geen specifieke kenmerken op.

De resultaten van een onderzoek naar de lipiden in de duodenaal gal van normale zuigelingen en van eigen patienten volgen in hoofdstuk 8.

na een beschrijving van de gebruikte methoden in hoofdstuk 7. De resultaten van de analyse van de gal bij de patienten laten een verlaging zien van de hoeveelheid galzuur en cholesterol in de gal van de patienten met intrahepatische galgangatresie.

Bij het gaschromatografische onderzoek van gal van twee patienten, lijdende aan galgangatresie, blijkt een extra piek waarneembaar te zijn. Verder onderzoek naar de identiteit van deze piek met behulp van massaspectrometrisch onderzoek wordt beschreven in hoofdstuk 9. Met behulp van referentie materiaal verkregen uit gal van een alligator (*Alligator mississippiensis*) wordt aangetoond dat de onbekende piek op het gaschromatogram van gal-extract van twee patienten trihydroxycoprostaanzuur ($3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ trihydroxy 5β -cholestaan-26-carbonzuur) is. Deze stof is een intermediair bij de vorming van cholsuur. Het is aan nemelijk dat deze stof uitgescheiden wordt tengevolge van een verminderde capaciteit van de hepatocyten om de drie eindstandige C-atomen van de zijketen van het trihydroxycoprostaanzuur af te splitsen.

In hoofdstuk 10 (Discussie) wordt tenslotte naar aanleiding van de vondst van deze abnormale galzuurmetaboliet een hypothese opgesteld over het ontstaan van (een bepaalde vorm van) intrahepatische galgangatresie.

SUMMARY

Investigations carried out on nine patients with intrahepatic biliary atresia, also known as „paucity of intrahepatic bile ducts“ are described. In intrahepatic biliary atresia a considerable decrease of interlobular bile ducts exists.

In chapter 1 a number of familial neonatal liver diseases are discussed, in which obstructive jaundice occurs. We have done so because of the familial occurrence of intrahepatic biliary atresia in our material, and by reason of the difficulties which can arise in distinguishing those diseases from intrahepatic biliary atresia. It is well known that the diagnosis of neonatal obstructive liver diseases often raises considerable problems.

In chapter 2 a synopsis is given of the cases of intrahepatic biliary atresia, reported in the literature, and special attention is paid to the histological pattern. It is apparent that total absence of intrahepatic bile ducts is rarely established. For that reason the term hypoplasia would be preferable to atresia.

In chapter 3 a survey is given of the major bile constituents and of the mechanism of bile secretion, while in chapter 4 cholestasis is discussed. The important role of cholestasis in intrahepatic biliary atresia and its possible etiologic function was the reason for this.

The clinical and routine biochemical findings about our patients are given in chapter 5.

Hyperbilirubinaemia was a constant finding, and increased values for transaminases and alkaline phosphatase were found in most patients. Increased blood levels of cholesterol were established in about half of the cases that were investigated, and xanthomatosis was seen in only one patient.

The histological features in our patients and in addition some submicroscopical findings are reported in chapter 5. In all patients a significant decrease of the number of interlobular bile ducts, as well as bile stasis, was found. The submicroscopical study of the liver in five patients revealed no specific pattern.

Results of the determination of the lipid composition of normal bile and of the bile of our patients are described in chapter 8. Methods are given in chapter 7. The results of the lipid analysis show a significant lower content of bile acids and of cholesterol in the bile of patients with intrahepatic biliary atresia.

Gaschromatography of the bile of two patients shows, in addition to cholic acid and chenodeoxycholic acid, an unknown peak. Further investigations of the unknown compound by means of mass spectrometry are given in detail in chapter 9, and reveal the identity. It is estab-

lished that the formerly unknown peak represents trihydroxycoprostanic acid ($3\alpha, 7\alpha, 12\alpha$ - trihydroxy - 5β - cholestanoic acid), an intermediate in the biosynthesis of cholic acid. Presumably the excretion of trihydroxycoprostanic acid is due to a reduced capacity of the hepatocytes to split off the 3 terminal carbon atoms of the side chain of trihydroxycoprostanic acid.

In chapter 10 a theory is developed according to which the presence of the abnormal bile acid intermediate is due to an inborn error of metabolism leading to bile stasis and hypoplasia of intrahepatic bile ducts subsequently.

- AGOSTINI O, HAGEN C B VAN DER, RIJSENI S (1968) Hereditary recurrent intra-hepatic cholestasis from birth. Arch Dis Child **43** 646
- ADAM A (1951) Biologische Daten für den Kinderarzt 2. Auflage Hrg. J. Brock Berlin - Springer
- ADMIRAND W H, SMITH D M (1968) The physicochemical basis of cholesterol gall stone formation in man. J Clin Invest **47** 1043
- ALRINE E H Jr, HARRIS R C, MAC MAHON H F (1951) Atresia of the intrahepatic bile ducts. Pediatrics **8** 628
- ARACILI D, BORDE J, HABIB E, JOANNIDES Z, THOMASSIN N, KREMP I (1968) Ictères cholestatiques familiaux de l'enfant. Etude de huit observations dans trois fratries. Rev Int Hepatol **18** 701
- ARACILI D, HABIB E C, THOMASSIN N (1969) L'atresie des voies biliaires intra-hepatiques avec voies biliaires extra-hepatiques perméables chez l'enfant. Journées parisiennes de pédiatrie. Editions Médicales Paris Flammarion
- ALPERT I I, STRAUSS I, HIRSCHORN K (1969) Neonatal hepatitis and biliary atresia associated with trisomy 17-18 syndrome. N Eng J Med **280** 16
- BAIN, G O, WANG C C, MISANIK, L I (1957) Giant cell hepatitis associated with hereditary spherocytosis. J Pediatrics **51**, 549
- BIRINDI, H (1962) Diagnostic tests in infants and children. p. 320 Philadelphia, Lea & Febiger
- BIRILLON P, IRIEN FR, S. DUBREUIL D, PRIMAUX, A (1970) Mechanism of phenobarbital induced hypercholesterolemia in the rat. Am J Physiol **219** 809
- BJORKHEIM I, DANIELSSON H, EINARSSON K, JOHANSSON G (1968) Formation of bile acids in man: conversion of cholesterol into 5 β -cholestane-3 α , 7 α , 12 α -triol in liver homogenates. J Clin Invest **47** 1573
- BOON J M (1965) Neonatale hepatitis of familiale neonatale stuwingsicterus. Maandsch Kindergezondsch **33** 465
- BOON J, BROEKHUYSE R M, MUNSIE P VAN SCHRIJVEN I (1969) Abnormal pattern of the phospholipids of plasma and erythrocytes in four children with obstructive jaundice with abnormal spontaneous hemolysis. Clin Chim Acta **23** 453
- BOON J M, SCHRIJVEN I D A M (1970) Classificatie van het syndroom neonatale hepatitis. Ned Tijdschr Geneesk **114** 4
- BOLCHER I A, COOKEBAND S R, LE KODSE B M (1965) Mucous substances and viscosity of normal and pathological human bile. Gastroenterology **49** 343
- BOURCES M, SMITH D M, DERICHEV D G (1967) Biophysics of lipid association. III. The quaternary systems lecithin-bile salt-cholesterol-water. Biochim Biophys Acta **144** 189
- BRENE R I (1962) Persistent jaundice in infancy. J Pediatrics **61** 111
- BROEKHUYSE R M (1969) De fosfolipiden van de leus. Academisch proefschrift Nijmegen
- BURNET W (1965) The biliary system. Ed. W. Taylor Blackwell Oxford
- CAMPBELL A N, SMITH W O (1951) Landlaw. The phase rule 9th ed. New York

- CARRY, J. B. & JI, WILLIAMS G. J. (1961) Relief of the pruritus of jaundice with a bile acid sequestering resin. *J. A. M. A.* **176**, 432.
- CARRY, J. B. & JI, HASLWOOD G. A. D. (1963) Crystallization of trihydroxycoprostanic acid from human bile. *J. Biol. Chem.* **238**, pc 855.
- CARRY, J. B. & JI (1961) Conversion of cholesterol to trihydroxycoprostanic acid and cholic acid in man. *J. Clin. Invest.* **43**, 1443.
- CASSIDY, G., MORISSON, A. B. & COHEN, M. M. (1961) Familial giant cell hepatitis in infancy. *Am. J. Dis. Child.* **107**, 456.
- CHENE, W. H., SAWICKY, A., ISENBERG, H. D. (1966) The effect of bilirubin on the mammalian erythrocyte. *Transfusion* **6**, 475.
- CLAYTON, R. J., IBIR, I. L., REEFNER, B. H. (1969) Byler disease. *Am. J. Dis. Child.* **117**, 112.
- COLLON, D. A. (1960) Intrahepatic biliary atresia. *Lancet* **ii**, 294.
- CRAG, J. M. & LINDEN, B. H. (1952) Form of hepatitis in neonatal period simulating biliary atresia. *Arch. Pathol.* **54**, 321.
- CRUICKSHANK, S. & VAN LIM, K. S. (1966) Hypercholesterolemic xanthomatosis in consequence of congenital atresia of intrahepatic bile ducts treated with cholestyramine. *Ann. Paediat. (Basel)* **207**, 137.
- CRONHOLM, I., JOHANSSON, G. (1970) Oxidation of 5 β cholestane-3 α , 7 α , 12 α triol by rat liver microsomes. *Eur. J. Biochem.* **16**, 373.
- DAHL, IVERSEN, E., GORNISSEN, H. (1913/14) Sur l'occlusion congénitale des voies biliaires. *Acta Chim. Scand.* **89**, 333.
- DANKS, D., BODIN, M. (1963) A genetic study of neonatal obstructive jaundice. *Arch. Dis. Child.* **38**, 378.
- DAVENPORT, H. W. (1966) Physiology of the digestive tract. 2nd ed. p. 141. Year Book Medical Publishers, Chicago.
- DIERICH, K. F., ANDERS, C. (1957) H⁺ - Ionenkonzentration und CO₂ - Gehalt der Galle bei cholelithiasis. *HOPPE SEILERS Z. Physiol. Chem.* **309**, 60.
- DILSCHY, J. M., SPIERSHIN, M. D. (1965) Cholesterol synthesis by the gastrointestinal tract. Localization and mechanisms of control. *J. Clin. Invest.* **44**, 134.
- DILSCHY, J. M. (1968) Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids. *J. Lipid Res.* **9**, 297.
- DILSCHY, J. M., WILSON, J. D. (1970) Regulation of cholesterol metabolism. I, II, III. *N. Engl. J. Med.* **282**, 1128, 1179, 1241.
- DILLNER, J. C., FESLER, R. I. (1964) A simple, specific spray for the detection of phospholipids on thin layer chromatograms. *J. Lipid Res.* **5**, 126.
- EKDAHL, P. H. (1958) On the conjugation and formation of bile acid in human liver. VI. On the conjugation of cholic acid 24¹⁴C in human liver homogenates in various diseases with special reference to patients with jaundice, bile acids and steroids. *Acta Chim. Scand.* **115**, 208.
- ELLAS, H. (1967) Recruitment in human bile duct formation. *Acta Hepatosplenol.* **14**, 253.
- ELLAS, H., SHERRICK, J. C. (1969) Morphology of the liver. Academic Press, New York.
- ENCARNIZ, J. C., SJOVALI, J. (1959) On the bile acids in duodenal contents of infants and children. *Chin. Chim. Acta* **4**, 793.

- EXTENMAN C, HOLLOWAY R J, ALBRICHT M I, ILLIUS G I (1969) Bile acids and lipid metabolism II. Essential role of bile acids in bile phospholipid excretion. *Arch Biochem Biophys* **130** 253
- ERLINGER S (1968) Les mecanismes de la secretion biliaire. *Rev Intern Hepatol* **18** 1
- ERLINGER S (1971) Cholercèse et multiplicité des mecanismes d'excretion du foie. *Biol Gastroenterol* **2** 105
- FARVARD E, JANSSEN G (1968) Gas-liquid chromatographic determination of human fecal bile acids. *J Lipid Res* **9** 226
- EYSSIN H, PARMETTIER G, COMPERNOFF I, BOON J, ECLERMONI F (1972) Iithy-dioxycoprostanic acid in the duodenal fluid of two children with intrahepatic bile duct anomalies. *Biochim Biophys Acta* **273** 212
- FIENBERG R (1960) Perinatal idiopathic hemochromatosis. Giant cell hepatitis interpreted as an inborn error of metabolism. *Am J Clin Pathol* **33** 480
- FRATIER W H de (1960) Waarnemingen over de stofwisseling van broomsulfaleine in het bijzonder bij de ziekte van Dubin. *Spunz Academisch Proefschrift Groningen*
- GILLIS S S, CRAIG J M, HSIA D Y Y (1951) Prolonged obstructive jaundice in infancy. *Am J Dis Child* **88** 285
- GHERARDI G J, MACMAHON H E (1970) Hypoplasia of terminal bile ducts. *Am J Dis Child* **120** 151
- GRIGY Wissenschaftliche Tabellen (1969) 7. Auflage. J. R. Geigy A.G. Pharma Basel
- GUSTAFSSON B F, BERGSTROM S, LINDSTED, S, NORMAN A (1957) Turnover and nature of fecal bile acids in germfree and infected rats fed cholic acid-24-¹⁴C. Bile acids and steroids 41. *Proc Soc Exp Biol Med* **94** 467
- HAAS I, DOBBS R H (1958) Congenital absence of the intrahepatic bile ducts. *Arch Dis Child* **33** 396
- HAAS G H, DE SARDI J, ROGER J (1965) Positional specific hydrolysis of phospholipids by pancreatic lipase. *Biochim Biophys Acta* **106** 638
- HANAI H, IDRIS F, SWANSON O (1967) Bile duct proliferation in atresia and related hepatic diseases. *Arch Surg* **94** 14
- HARGREAVES T (1968) The liver and bile metabolism. Appleton Century Crofts New York
- HARRIS R C, ANDERSEN D H (1960) Intrahepatic bile duct atresia. *Am J Dis Child* **100** 783
- HARRIS R C, BLANC W A (1966) Chromosomal anomaly and biliary atresia. A claim for improved standards in the diagnosis of extrahepatic biliary atresia. *J Pediatrics* **68** 322
- HASELWOOD G A D (1967) Bile Salts. Methuen monographs on biochemical subjects. Methuen & Co. London
- HOFMAN, A F (1968) Functions of bile in the alimentary canal. - Handbook of physiology Vol A. Section 6. The alimentary canal p. 2507. American Physiological Society Washington D.C.
- HSIA D Y Y, BOCCS J D, DRISCOLL S G, GILLIS S S (1958) Prolonged obstructive jaundice in infancy. V. The genetic components in neonatal hepatitis. *Am J Dis Child* **95** 485

- HUNT, R. D., LEVINE, G. A., SAUBERICH, H. F. (1964) Dietary bile acids and lipid metabolism. III. Effects of lithocholic acid in mammalian species. *Proc Soc Exp Biol Med* **115** 277.
- HULTFELT, I., DIENK, H., BACCIN, P. G., SCHENKMAN, J. B., SCHAEFER, F., POPPER, H. (1970 a) Mechanisms of cholestasis. I. Effect of bile acids on microsomal cytochrome P 450 dependent biotransformation system in vitro. *Life Sci (II)* **9**, 877.
- HULTFELT, I., BACCIN, P. G., RAUSLEY, I. H., SCHENKMAN, J. B., SCHAEFER, F., POPPER, H. (1970 b) Alteration of microsomal biotransformation in the liver in cholestasis. *Proc Soc Exp Biol Med* **133** 702.
- IMMEL, I. B. VAN, HASHIM, S. A., CRAMPION, R. S., LEMME, D. M. (1961) The treatment of pruritus and hypercholesterolemia of primary biliary cirrhosis with cholestyramine. *N Engl J Med* **265** 469.
- IIO, J., SUGAI, T., SAITO, I. (1967) Atresia of the intrahepatic bile ducts with xanthomatosis. *Arch Dermatol* **96**, 53.
- JAVILL, N. B., ARIAS, I. M. (1967) Intrahepatic cholestasis: a functional approach to pathogenesis. *Gastroenterology* **53** 171.
- JAVILL, N. B., EMIRNAN, S. (1958) Effect of sodium taurolithocholate on bile flow and bile acid excretion. *J Clin Invest* **47** 1002.
- JAVILL, N. B. (1971) The cholestatic syndrome. *Am J Med* **51** 637.
- JOANNIDES, Z., ARACHLI, D. (1966) Effet de l'association d'acide orotique et de sorbitol sur les cholestases prolongées du nouveau-né. *Arch Fr Pédiatr* **23** 964.
- KATZBERMAN, R., CRUTZFIELD, W. (1970) The effect of experimental cholestasis on the negative feedback regulation of cholesterol synthesis in rat. *Scand J Gastroenterol* **5**, 337.
- KRAVSEN, C. D. (1971 a) Does bile acid secretion determine canalicular bile production in rats? *Am J Physiol* **220** 667.
- KRAVSEN, C. D. (1971 b) Studies on the increased biliary flow produced by phenobarbital in rats. *J Pharmacol Exp Ther* **176** 743.
- KRAUS, A. N. (1964) Familial extrahepatic biliary atresia. *J Pediatrics* **65** 933.
- LAPIANI, R., GRAVITANI, D., LODI, C., NOUFI, I. (1954) Les hépatites neonatales familiales. *Pediatrics* **19** 217.
- LINSFELD, S. (1962) Equilibration of dietary cholesterol and bile acids in man. *Clin Chim Acta* **7** 1.
- LOUISFELDT, F. I., KRIVIT, W., AUST, J. B., CARL, J. B. JR. (1953) Cholestyramine therapy in intrahepatic biliary atresia. *N Engl J Med* **269** 186.
- MACAROI, V., MORRIS, J. Q., BAKER, K. J., BRADLEY, S. F. (1970) Hydrocortisone cholestasis in the dog. *J Clin Invest* **49**, 1714.
- MACMURDO, H. E., THANNHAUSER, S. J. (1952) Congenital dysplasia of the interlobular bile ducts with extensive skin xanthomata: congenital acholangic biliary cirrhosis. *Gastroenterology* **21** 488.
- MAKINO, I., SJOVALL, J., NORMAN, A., STRANDVIK, B. (1971) Excretion of β -hydroxy- δ -choleanoic and β α -hydroxy- δ α -choleanoic acids in urine of infants with biliary atresia. *J FBS Letters* **15** 161.
- MIHATSCU, C., MIHATSCU, F. (1950) Seromucoid contents of human bile. *Nature* **186**, 394.
- MOYSON, F., GILLI, P., RICHARD, J. (1953) Agénésie des canaux biliaires intra hépatiques. *Helv Paediatr Acta* **8** 281.

- NAKAYAMA I, BLONSTRAND R (1961) Neutron activation paper chromatographic analysis of phospholipids in human liver and bile. *Acta Chem Scand* **15** 195
- NAKAYAMA I, JOHNSON C G (1962) Fractionation of bile lipids with silicic acid column chromatography. *J Lab Clin Med* **59** 364
- NAKAYAMA I (1967) Quantitative microanalysis of bile. *J Lab Clin Med* **69** 594
- NEVIN N C, BIRI M, IFAZIR M J I, FROST P (1969) Congenital extrahepatic biliary atresia in two brothers. *J Med Genet* **6** 379
- NILSON S, SCHERSTEN T (1969) Importance of bile acids for phospholipid secretion into human hepatic bile. *Gastroenterology* **57** 525
- NORMAN A, STRANDVIK B, ZETTERSTROM R (1969) Bile acid excretion and malabsorption in intrahepatic cholestasis of infancy (Neonatal hepatitis). *Acta Paediatr Scand* **58** 59
- OHTI R, KAMI M, TAKAHASHI T (1969) Intrahepatic biliary obstruction in congenital bile duct atresia. *Tohoku J Exp Med* **99** 129
- OMURA T, SAITO R, COOPER D Y, ROSENTHAL O, ESTABROOK R W (1955) Function of cytochrome P 450 of microsomes. *Fed Proc* **24** 1181
- OPITZ J M, REHM G M, ZI VITALI L, SHAMDI N I, HOWE J J, GHOU S M, SHANKIN D R, SYBERS H D, DOOD A R, GERRITSSEN T (1969) The Zellweger syndrome (Cerebro hepato renal syndrome). Birth Defects Original Article series part II 141
- PAUMGARTNER G, HORAK W, PROBST P, GRABNER G (1971) Effect of phenobarbital on bile flow and bile salt excretion in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **270** 98
- PEETERMAN M G (1957) Neonatal hepatitis in siblings. *J Pediatrics* **50** 315
- PIHLIS G B (1960) The lipid composition of bile. *Biochim Biophys Acta* **41** 361
- PILLON, P (1966) Un cas de syndrome de MacMahon - Thannhauser congenital modifiable pathologique particuliere de l'agenesie biliaire intrahepatique. *Helv Paediatr Acta* **21** 327
- PISSIDIS A G, BOMBICK C I, MERCHANT I, NYHUS T M (1969) Hormonal regulation of bile secretion: a study in the isolated perfused liver. *Surgery* **66** 1075
- PLUSS G (1962) Perinatale Schaden. *Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde* vol 17 p 264 Springer Berlin
- PORTY J R, DOWIE, J C, OWEN C A Jr, SICKLER G B (1954) Bile acids in infants and children. *J Lab Clin Med* **63** 838
- POTONOVSKI M, BOURRILLON R (1952) Etude sur la composition des biles dans la senec animale. *Bul Soc Chem Biol* **34**, 703
- POWELL H (1968) Cholestasis. *Annu Rev Med* **19** 39
- POPPER H (1969) Intrahepatische Cholestase. *Aktuelle Hepatologie* Rktn H A Kuhn & H Fiecht Georg Thieme Verlag Stuttgart
- PREISS R, COOPER H I, WHITETER H O (1962) The relationship between taurocholate secretion rate and bile production in the unanesthetized dog during cholinergic blockade and during secretin administration. *J Clin Invest* **41** 1152
- ROSENTHAL I M, SPILLBERG M A, MCGREW F A, ROZENTHAL I H (1961) Absence of interlobular bile ducts. *Am J Dis Child* **101** 228
- SACRIZ R, FRUHLING I, ROHMERT J A (1945) Ictere intermittent. Agenesie des voies biliaires intrahepatiques. *Arch Fr Pediatr* **3** 78

- SALUTE J I (1968) Reuscel hepatitis bij de pasgeborene. *Maandsch Kindergeneeskd* **36** 384
- SASS KORISAK A, BOWDEN D H, BROWN R J K (1956) Congenital intrahepatic biliary atresia. *Pediatrics* **17** 383
- SATO Y (1970) The metabolic fate of lysolecithin administered into rat duodenal lumen. *Tohoku J Exp Med* **100** 277
- SANDERS D R, PARMENIER C M, WAYS P O (1958) Metabolism of lysolecithin by rat small intestine. *Gastroenterology* **54** 382
- SCHMIDNER I, POLPER H (1969) Cholestasis is the result of hypoactive hypertrophic smooth endoplasmic reticulum in the hepatocyte. *Lancet* **II** 355
- SCHMIDTEN I, BJORKFRED S, BJORNSTROM P (1966) Oxidation and phosphorylation reactions in isolated liver mitochondria in normal and icteric conditions. *Scand J Gastroenterol* **1** 284
- SCHOENFELD I J (1969) The relationship of bile acids to pruritus in hepatobiliary disease. Bile salt metabolism. (Eds I Schiff, J M Detschy, Charles C Thomas Springfield)
- SCOTT R B, WILKINS W, KESSLER A (1951) Viral hepatitis in early infancy. Report of three cases in siblings simulating biliary atresia. *Pediatrics* **13** 447
- SEVENS C B (1971) A morphological study of the development of the human liver. I. Development of the hepatic diverticulum. *Am J Anat* **131** 133
- SEVENS C B (1972) A morphological study of the development of the human liver. II. Establishment of liver parenchyma, extrahepatic ducts and associated venous channels. *Am J Anat* **133** 85
- SHAIRO I, RICHTER E (1965) Intrahepatic biliary atresia with xanthomatosis. *Arch Dermatol* **94** 791
- SHARP H I, CAREY J B Jr, WHITE J G, KRIVIT W (1967) Cholestyramine therapy in patients with a paucity of intrahepatic bile ducts. *J Pediatrics* **71** 723
- SHARP H I, MIRKIN B I (1972) Effect of phenobarbital on hyperbilirubinaemia, bile acid metabolism and microsomal enzyme activity in chronic intrahepatic cholestasis of childhood. *J Pediatrics* **81** 116
- SHERLOCK S (1966) Biliary secretion failure in man. The problem of cholestasis. *Ann Intern Med* **65** 397
- SHERLOCK S (1968) Diseases of the liver and biliary system. Blackwell Oxford
- SILVERBERG M, CRAIG J, GRITTS S S (1960) Problem in the diagnosis of biliary atresia. *Am J Dis Child* **99** 574
- SJOVALL J (1960) Bile acids in man under normal and pathological conditions. Bile acids and steroids 73. *Clin Chim Acta* **5** 33
- SMALL D M (1959) A physical chemical approach to bile. Bile salt metabolism. (Eds J Schiff, J B Carey, J M Detschy, Charles C Thomas Springfield)
- SPEERER, I (1959) Secretion of organic anions in the formation of urine and bile. *Pharmacol Rev* **11**, 109
- STEED H M, STAPLE E, GURIN S (1952) Mechanism of formation of bile acids from cholesterol. Oxidation of 5 β cholestane 3 α , 7 α , 12 α triol and formation of propionic acid from the side chain by rat liver mitochondria. *J Biol Chem* **237**, 338
- SCAMMERSKILL W H J, WATKINS J M (1959) Benign recurrent intrahepatic obstructive jaundice. *Lancet* **II** 686

- SUZUKI H, GILBERT I, ANDO A, JONES B, KLEINBER W G (1956) Galactosemia. A report of two fatal cases with giant cell transformation of the liver in one. *Arch Pathol* **82** 602
- SWILLI I K (1932) Congenital malformation of bile ducts: report of three cases in one family. *J Pediatrics* **1** 496
- SWILLI I, FETTERMAN C, LITTON G I, HORTON W R J (1958) Bile acids and lipid metabolism. IV. Influence of bile acids on biliary and liver organic phospholipids and cholesterol. *Am J Physiol* **215** 1390
- THOMPSON, P (1908) A note on the development of the septum transversum and the liver. *J Anat Physiol* **42** 170
- THOMPSON W G (1971) Cholestyramine. *Can Med Assoc J* **104** 305
- VERMASEN A, BODDAERT J (1962) Congenitale agenesie van de intrahepatische galwegen. *Maandschr kinder geneesk* **30** 56
- WEISBROD I G, SCHIFF I, GALT L A, CLEVELAND I P, BERMAN J R (1950) Symposium on liver disease: needle biopsy of liver: experiences in differential diagnosis of jaundice. *Gastroenterology* **14** 56
- WILLIET H O (1971) Concentrating function of the gallbladder. *Am J Med* **51** 588
- WITBRANDT W Ch (1955) Atresie der intrahepatischen Gallenwegen mit zwei Tumoren. *Med Klin* **60** 409
- IJSSIE DE SCHIEPPE J J I, GELDEREN H II van (1969) Cholestyramine therapie bij patienten met een hypoplasie van de intrahepatische galwegen. *Maandschr kinder geneesk* **37** 65

STELLINGEN

I

De etiologie van intrahepatische galgangatresie is op zijn minst tweeledig

Dit proefschrift

II

Bij een aangeboren leverafwijking dient men in het bijzonder bedacht te zijn op het tevens aanwezig zijn van een aangeboren hartgebrek

Dit proefschrift

III

Bij het nelrotische syndroom op de kinderleeftijd, pathologisch-anatomisch gekenmerkt door „minimal lesions”, is cyclophosphamide *met* het eerst aangewezen geneesmiddel

Spruzer (1972) — Pediatrics 50: 358

IV

Het ontbreken van een adequate, gespecificeerde registratie van aangeboren afwijkingen bemoeilijkt het berekenen van herhalingskansen van multifactorieel bepaalde afwijkingen

V

Er zijn duidelijke aanwijzingen dat voor de ziekte van Hirschsprung slechts palliatieve behandelingsmogelijkheden bestaan.

Prevot ca. (1972) — Progress Pediatric Surgery 4: 63

VI

Bij kinderen met een lymfeklierzwellling in de hals van onbekende aard, dient niet langer dan drie weken gewacht te worden met het verrichten van een biopsie.

Leffler (1968) — Arch. Ev. Pediatric 25: 331

VII

Uitsluitend het aantonen van een stoornis in het „glycine cleavage system” is niet voldoende om de diagnose niet-ketotische hyperglycinemie met zekerheid te kunnen stellen

Ando et al (1972) - *Pediat Res* 6, 576

VIII

Het vóórkomen van, gewoonlijk ellipsvormige, gedepigmenteerde huidvlekken is vaak het eerste symptoom van tuberculeuze sklerose.

Hinwiz en Braverman (1970) - *J Pediatrics* 77, 587

IX

Gedragsegels in de verloskundige praktijk dienen, voorzover zij steunen op oudere statistische gegevens betreffende morbiditeit en mortaliteit in de groep van „high risk” pasgeborenen, in een aantal gevallen herzien te worden.

X

Omdat intensieve belichting, zoals wordt toegepast bij fototherapie, zowel op de retina als op het cerebrum een nadelige invloed zou kunnen hebben, verdient het aanbeveling om in plaats van alleen de ogen, het gehele hoofd af te schermen.

Behrman en Hsia (1969) - *J Pediatrics* 75, 718

XI

Bij het differentiëren tussen extrahepatische en intrahepatische galstase bij jonge zuigelingen is een verbetering van de resultaten van de J^{131} -Bengaals rood proef te verwachten door gecombineerde orale toediening van cholestyramine.

Polcy (1972) - *Gastroenterology* 62, 794

XII

Een „Wiegel-effect” leidend tot een scherpere controle bij „ongeoorloofd” ziekteverzuim zal zeer waarschijnlijk slechts een toename van menselijk leed en een groei van het controlerende apparaat tot gevolg hebben.

